



Über dieses Buch

Dies ist ein digitales Exemplar eines Buches, das seit Generationen in den Regalen der Bibliotheken aufbewahrt wurde, bevor es von Google im Rahmen eines Projekts, mit dem die Bücher dieser Welt online verfügbar gemacht werden sollen, sorgfältig gescannt wurde.

Das Buch hat das Urheberrecht überdauert und kann nun öffentlich zugänglich gemacht werden. Ein öffentlich zugängliches Buch ist ein Buch, das niemals Urheberrechten unterlag oder bei dem die Schutzfrist des Urheberrechts abgelaufen ist. Ob ein Buch öffentlich zugänglich ist, kann von Land zu Land unterschiedlich sein. Öffentlich zugängliche Bücher sind unser Tor zur Vergangenheit und stellen ein geschichtliches, kulturelles und wissenschaftliches Vermögen dar, das häufig nur schwierig zu entdecken ist.

Gebrauchsspuren, Anmerkungen und andere Randbemerkungen, die im Originalband enthalten sind, finden sich auch in dieser Datei – eine Erinnerung an die lange Reise, die das Buch vom Verleger zu einer Bibliothek und weiter zu Ihnen hinter sich gebracht hat.

Nutzungsrichtlinien

Google ist stolz, mit Bibliotheken in partnerschaftlicher Zusammenarbeit öffentlich zugängliches Material zu digitalisieren und einer breiten Masse zugänglich zu machen. Öffentlich zugängliche Bücher gehören der Öffentlichkeit, und wir sind nur ihre Hüter. Nichtsdestotrotz ist diese Arbeit kostspielig. Um diese Ressource weiterhin zur Verfügung stellen zu können, haben wir Schritte unternommen, um den Missbrauch durch kommerzielle Parteien zu verhindern. Dazu gehören technische Einschränkungen für automatisierte Abfragen.

Wir bitten Sie um Einhaltung folgender Richtlinien:

- + *Nutzung der Dateien zu nichtkommerziellen Zwecken* Wir haben Google Buchsuche für Endanwender konzipiert und möchten, dass Sie diese Dateien nur für persönliche, nichtkommerzielle Zwecke verwenden.
- + *Keine automatisierten Abfragen* Senden Sie keine automatisierten Abfragen irgendwelcher Art an das Google-System. Wenn Sie Recherchen über maschinelle Übersetzung, optische Zeichenerkennung oder andere Bereiche durchführen, in denen der Zugang zu Text in großen Mengen nützlich ist, wenden Sie sich bitte an uns. Wir fördern die Nutzung des öffentlich zugänglichen Materials für diese Zwecke und können Ihnen unter Umständen helfen.
- + *Beibehaltung von Google-Markenelementen* Das "Wasserzeichen" von Google, das Sie in jeder Datei finden, ist wichtig zur Information über dieses Projekt und hilft den Anwendern weiteres Material über Google Buchsuche zu finden. Bitte entfernen Sie das Wasserzeichen nicht.
- + *Bewegen Sie sich innerhalb der Legalität* Unabhängig von Ihrem Verwendungszweck müssen Sie sich Ihrer Verantwortung bewusst sein, sicherzustellen, dass Ihre Nutzung legal ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass ein Buch, das nach unserem Dafürhalten für Nutzer in den USA öffentlich zugänglich ist, auch für Nutzer in anderen Ländern öffentlich zugänglich ist. Ob ein Buch noch dem Urheberrecht unterliegt, ist von Land zu Land verschieden. Wir können keine Beratung leisten, ob eine bestimmte Nutzung eines bestimmten Buches gesetzlich zulässig ist. Gehen Sie nicht davon aus, dass das Erscheinen eines Buchs in Google Buchsuche bedeutet, dass es in jeder Form und überall auf der Welt verwendet werden kann. Eine Urheberrechtsverletzung kann schwerwiegende Folgen haben.

Über Google Buchsuche

Das Ziel von Google besteht darin, die weltweiten Informationen zu organisieren und allgemein nutzbar und zugänglich zu machen. Google Buchsuche hilft Lesern dabei, die Bücher dieser Welt zu entdecken, und unterstützt Autoren und Verleger dabei, neue Zielgruppen zu erreichen. Den gesamten Buchtext können Sie im Internet unter <http://books.google.com> durchsuchen.

COLUMBIA LIBRARIES OFFSITE



CU05548004

D 614.4

C33

45²

Columbia University
in the City of New York



ENTER

Library

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten.

Erste Abteilung. XLV. Band.

Originale.

CENTRALBLATT
für
Bakteriologie, Parasitenkunde
und Infektionskrankheiten.

In Verbindung mit
Geh. Med.-Rat Professor Dr. Loeffler
in Greifswald,
Geh. Med.-Rat Professor Dr. R. Pfeiffer
in Königsberg
und
Staatsrat Professor Dr. M. Braun
in Königsberg
herausgegeben von
Prof. Dr. Oscar Uhlworm in Berlin.

Erste Abteilung. XLV. Band.
Medizinisch-hygienische Bakteriologie und tierische Parasitenkunde.

Originale.

Mit 20 Tafeln und 91 Abbildungen im Texte.

J e n a ,
Verlag von Gustav Fischer.
1908.

Nachdruck verboten.

Zur Technik der Cytotoxinuntersuchung.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck. Vorstand: Prof. M. Loewit.]

Von Dr. **Gustav Bayer**, Assistenten am Institute.

Mit 2 Figuren.

Während wir über den Vorgang der Hämolyse — sei er nun durch normale oder Immunsera, durch Bakterien- oder Tiergifte bedingt — eine wenigstens stellenweise recht detaillierte Kenntnis besitzen, sind unsere Vorstellungen über das Wesen und die Wirksamkeit der gegen Organzellen gerichteten Toxine noch ziemlich unklar. Besonders deutlich zeigt sich dieser Unterschied bei einer Vergleichung der Wirkungsweise von Serumhämolysinen einerseits und von immunisatorisch erzeugten Cytotoxinen andererseits. So sei z. B. daran erinnert, daß die Frage, ob Organzellen überhaupt eine Veränderung eingehen können, die der Agglutination der roten Blutkörperchen entspricht, erst durch Versuche der jüngsten Zeit eine Beantwortung gefunden hat¹⁾.

Diese Differenz erklärt sich, wie unlängst L. Michaelis und Fleischmann²⁾ betonten, vornehmlich durch die Schwierigkeit, einen Antikörper gegen Organzellen in seiner Wirkung zur Anschauung zu bringen, was bisher meistens durch die mikroskopische Untersuchung des betroffenen Organes und Konstatierung nekrotischer oder entzündlich degenerativer Prozesse nach der Injektion des Cytotoxins angestrebt wurde. Die Unvollkommenheit dieser Methode liegt zum Teil darin, daß sie nur in eine einzelne Phase des Vergiftungszustandes einigen Einblick gewährt. Andere Autoren versuchten die der histologischen Methode anhaftenden Mängel dadurch zu eliminieren, daß sie die im Anschlusse an Cytotoxininjektionen eintretenden Aenderungen der Funktion des Organes, gegen welches sich das Cytotoxin in seiner Wirkung wenden sollte, am lebenden Tiere beobachteten. Aber nicht immer geben sich Ausfall oder Aenderung einer Organfunktion in genügend scharfer und eindeutiger Weise zu erkennen, so daß auch diese Methode nicht allgemein anwendbar ist. Außerdem aber kann hier ebenso wie bei der histologischen Untersuchung durch das Ineinandergreifen der Funktionen verschiedener Organe mit den daraus resultierenden sekundären Schädigungen einerseits und Kompensationsvorgängen andererseits ein die exakte Beobachtung erschwerendes Moment gegeben sein.

Die Schwierigkeiten, die sich der direkten Beobachtung einer Giftwirkung im Gesamtorganismus entgegenstellen, und das Bestreben, den Effekt cytotoxischer Agentien mit möglichster Anschaulichkeit zu demonstrieren, leitete daher zur Verwendung solcher zelliger Elemente oder Organe, die, vom übrigen Tierkörper getrennt, noch eine Zeitlang

1) Michaelis, L. und Steindorf, K., Biochem. Zeitschr. Bd. II. Heft 1. p. 43—51.

2) Michaelis, L. und Fleischmann, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVIII. Heft 5/6.

eine leicht zu beobachtende Lebensäußerung zu erkennen geben, wie dies etwa bei Flimmerzellen oder Spermatozoen der Fall ist. Dadurch erklärt sich, daß wir gerade über Spermatoxin und Trichotoxin verhältnismäßig gut unterrichtet sind.

Ebenso günstig liegen vielleicht auch die Verhältnisse für eine Analyse der Wirkung kardiotoxischer Sera auf überlebende Herzen, wie eine solche bereits vor einiger Zeit durch A. Kuliabko und S. Metalnikoff¹⁾ angebahnt wurde.

Von diesen Gesichtspunkten aus versuchte ich, die Organe von Kaltblütern, die im überlebenden Zustande lange Zeit vortrefflich erhalten bleiben können, dem Zwecke des Studiums cytotoxischer Vorgänge dienstbar zu machen. Besonders dürften zu solchen Untersuchungen das Nervenmuskelpräparat des Frosches, eventuell seine einzelnen Bestandteile geeignet sein, weil die so sehr ausgearbeitete Technik der Nerven- und Muskeluntersuchung erwarten läßt, einen sinnfälligen Ausdruck für verschiedene funktionelle, daher wohl auch für die durch cytotoxische Einflüsse bedingten Störungen zu erhalten.

Die Brauchbarkeit dieser der Nerven- und Muskelphysiologie entlehnten Methoden, die ja für toxikologische und pharmakodynamische Untersuchungen vielfach verwendet werden, für das Gebiet der Immunitätsforschung sei in folgendem an einem kleinen Beispiele, das allerdings nur indirekt mit der Immunitätslehre zusammenhängt, demonstriert. Als solches wurde die Einwirkung des Saponins auf den Muskel gewählt, um die Frage zu beantworten, ob die Giftwirkung des Saponins für die Muskeln, ebenso wie die hämolytische Wirkung, sich durch seine Beziehungen zum Cholesterin erklären lasse. Nahegelegt war diese Vermutung durch die Angabe Koberts²⁾ über die Aufhebung der allgemeinen Giftigkeit des Saponins durch das Cholesterin.

Das Gift (Saponinum purissimum albissimum Merck) wurde für diese Versuche — in physiologischer Kochsalzlösung gelöst — den kuraresierten Esculenten durch Injektion in die Aorta sinistra appliziert, während der Gastrocnemius des einen Beines durch rhythmische, gleichartige Reize (übermaximale Öffnungsschläge)³⁾ zur Kontraktion veranlaßt wurde. Da bei der Untersuchung anderer Substanzen (z. B. Abrin, Myotoxin) in wenigen vorläufigen Versuchen ein so eklatanter Effekt, wie bei den hier mitgeteilten Saponinversuchen, nicht eintrat, sondern sich in diesen Beispielen die Giftwirkung nur durch Aenderung des Verlaufes der Einzelzuckung oder durch Aenderung der Ermüdbarkeit oder Erregbarkeit zu erkennen gab, so mußte in diesen Fällen das andere Bein des Tieres abgebunden und auch seinem unvergifteten Gastrocnemius mußten zu Kontrollzwecken dieselben elektrischen Reize zugeführt werden.

Die myotoxische Wirkung des Saponins⁴⁾ kommt bei der beschrie-

1) Kuliabko, A. und Metalnikoff, S., Verhandlungen der Versammlung nordischer Naturforscher und Aerzte, Helsingfors, Juli 1902. Sektion f. Anatomie, Physiologie und med. Chemie. p. 89—92.

2) Kobert, R., Beiträge zur Kenntnis der Saponinsubstanzen für Naturforscher, Aerzte, Medizinalbeamte. Stuttgart 1904.

3) Die Abblendung der Schließungsschläge erfolgte mittels des Hüflerschen Stromwählers, für dessen leihweise Ueberlassung ich Herrn Prof. F. B. Hofmann zu größtem Danke verpflichtet bin.

4) Beiläufig sei erwähnt, daß in den oben zitierten „Beiträgen zur Kenntnis der Saponinsubstanzen“ von Kobert über die Muskelwirkung des Saponins nur sehr spär-

benen Versuchsanordnung in sehr deutlicher Weise zum Ausdruck. (Siehe Fig. 1 u. 2.)

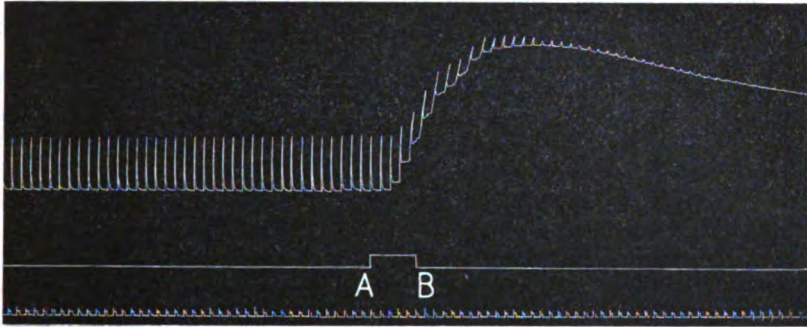


Fig. 1. Versuch vom 19. Jan. 1907. — Reizung des linken Gastrocnemius einer kuraresierten Esculenta mit Oeffnungsschlägen. R.A. = 2 cm. — Erregbarkeit zu Beginn des Versuches bei R.A. 7,8 cm, 1 Minute nach der Injektion gänzlich erloschen. Bei A Beginn, bei B Ende der Injektion von 5 ccm einer 5-promill. Saponinlösung. — Zeitmarke 1 Sekunde.

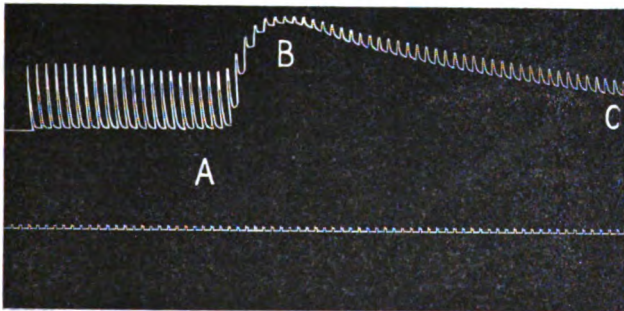


Fig. 2. Versuch vom 11. Dez. 1906. — Reizung des linken Gastrocnemius einer kuraresierten Esculenta mit Oeffnungsschlägen. R.A. = $2\frac{1}{4}$ cm. — Erregbarkeit zu Beginn des Versuches bei 9 cm, bei C R.A. = 4,5 cm; Erregbarkeit noch 5 Minuten nach der Injektion erhalten. — Nächste A Injektion von 3 ccm einer 5-promill. Saponinlösung. — Zeitmarke 1 Sekunde. — (Eine Reizmarkierung war bei diesem und einer Reihe anderer Versuche, deren Zweck eine Präzisierung des Momentes der Injektion nicht erreichte, unterblieben. Dieser Mangel fällt hier wohl nicht allzuschwer ins Gewicht, da sich die zeitlichen Verhältnisse der Giftwirkung aus Fig. 1 ergeben.)

Aus den in Fig. 1 und 2 verkleinert wiedergegebenen Kurven geht hervor, daß das Saponin eine chemische Reizung des Muskels bewirkt, welche mit einer Herabsetzung oder Vernichtung der Erregbarkeit einhergeht. — Die Vergrößerung der Zuckungshöhe in Fig. 2 (vom Punkte B an) dürfte ihre Erklärung im „Unterstützungsphänomen“¹⁾ finden.

liche Angaben zu finden sind, und daß die übrigen diesbezüglichen, meist sehr alten und einander widersprechenden Mitteilungen (zusammengestellt bei Kobert, Arch. f. exp. Path. u. Pharmak. Bd. XXI) keine deutliche Vorstellung betreffs der myotoxischen Saponinwirkung zu geben im stande sind.

1) Vergl. v. Kries, J., Du Bois Archiv. 1880. p. 365. — v. Frey, M., Festschrift für C. Ludwig. Leipzig 1887.

Ob das Erhaltenbleiben der Erregbarkeit bei dem in Fig. 2 wiedergegebenen Versuche dadurch zustande gekommen ist, daß einzelne Muskelfasern infolge einer größeren Resistenz der Giftwirkung Widerstand leisten konnten, oder ob das Saponin durch irgend einen zufälligen Umstand, etwa durch eine Embolie, zu einigen Muskelfasern nicht hingelangen konnte, muß unentschieden bleiben.

Daß nun diese am Muskel auftretenden Erscheinungen tatsächlich mit den Geschehnissen bei der Saponinhämolyse in Parallele gesetzt werden können, erhellt aus Versuchen, bei welchen statt der reinen Saponinlösung nach Ransoms¹⁾ Vorschrift hergestellte Saponin-Cholesterin-Gemische injiziert wurden. Solche Gemische sind, wie gegen Erythrocyten, so auch gegen den Froschmuskel unwirksam. Auf die Beigabe diesbezüglicher Kurven wurde mit Rücksicht auf das Fehlen jeglicher durch die Injektion bedingten Aenderung des normalen Kurvenbildes verzichtet.

Hieraus darf wohl mit größter Wahrscheinlichkeit gefolgert werden, daß der giftempfindliche Rezeptor der roten Blutzelle und der quergestreiften Muskelfaser gegenüber dem Saponin ein chemisch analoger, vermutlich cholesterinhaltiger Zellbestandteil ist.

Die Veröffentlichung dieser kurzen Mitteilung erscheint mir weniger mit Rücksicht auf die erlangten Resultate, als in Hinblick auf die angewendete Methode der Untersuchung gerechtfertigt, die auch für das Studium cytotoxischer Giftwirkungen auf den Muskel in hohem Grade geeignet erscheint. Ich behalte mir vor, bei einer anderen Gelegenheit auf diese bereits in Angriff genommenen Untersuchungen zurückzukommen. Schon gegenwärtig läßt sich aber wohl sagen, daß die Veränderungen des Kurvenbildes als Resultat der (Muskel-)Zellschädigung angesehen werden dürfen, und daß somit die Aenderung des Kurvenbildes einen zum mindesten ebenso sinnfälligen Ausdruck für die Alteration der Muskelzelle bietet, wie es der Hämoglobinaustritt bei der Einwirkung hämolytischer Agentien auf Erythrocyten ist. Für die Verfolgung der zeitlichen Verhältnisse ist diese Methode sogar der hämolytischen an Leistungsfähigkeit wahrscheinlich überlegen.

1) Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1901. p. 194.

Nachdruck verboten.

Studien über das Wachstum des Bacterium typhosum und des Vibrio cholerae in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern.

[Mitteilung aus dem hygienischen Institute zu Stockholm.]

Von Gerda Troili-Petersson, Surahammar (Schweden).

Für die umstrittene Frage, ob eine Vermehrung der Darmtyphus- und Choleraerreger außerhalb des menschlichen Körpers für die Verbreitung dieser Seuchen von Bedeutung sein kann, ist es wichtig, zu wissen, ob und eventuell wo diese Bakterien in der Umgebung des Menschen gedeihen können.

Daß die Typhusbakterien sich in sterilisierter Erde lange Zeit am Leben erhalten können, ist schon längst bekannt. Eine Angabe von Emmerich und Gemünd¹⁾ über eine Vermehrung sowohl von Typhus- wie Cholera Bakterien in steriler Erde scheint sehr unsicher. Die angebliche Vermehrung ist nämlich sehr gering, etwa 3-fach und die Impfung immens stark.

Almquist²⁾ züchtete die Typhus- und Cholera Bakterien in Auslaugungen verschiedener Düngersstoffe und hat eine sehr starke Vermehrung der beiden Bakterienarten konstatiert. Bei einer Impfung von höchstens einigen Hunderten von Individuen zeigte sich eine Vermehrung bis auf mehrere Hunderttausende in 1½ mg Flüssigkeit. Diese Untersuchungen sind betreffs des Typhusbakteriums von G. Koraen³⁾ weiter verfolgt worden, der 57 Typhusstämmen auf ihre Entwicklung in Düngers-extrakt hin untersuchte. Alle diese Stämme haben eine kräftige Vermehrung gezeigt.

Herr Prof. E. Almquist hat mir vorgeschlagen, folgende Untersuchungen vorzunehmen: Der Hauptzweck derselben ist, zu erforschen, ob die Typhus- und Cholera Bakterien in gewissen Stoffen, die geeignet zu sein scheinen, die Seuchen leicht zu verbreiten, zur Entwicklung gelangen können, und ob sie unter Umständen gegenüber anderen Bakterien konkurrenzfähig sind, so daß sie nicht von der betreffenden Bakterienflora ganz unterdrückt werden.

Unter den Stoffen, die in dieser Arbeit Gegenstand der Untersuchung waren, befinden sich Extrakte zweier Düngersstoffe, die aber, im Gegensatz zu den in den oben zitierten Arbeiten verwendeten, nur vegetabilischen Ursprungs sind. Weiter wurden untersucht: Kloakenwasser, Bilschwasser von kleinen, die Ostsee trafikierenden Schiffen, Sinkstoffe vom Boden des Norrströms in Stockholm, sowie die bei der Reinigung von den Filtern zweier verschiedener Wasserleitungen vorgenommene Masse, hauptsächlich aus Algen, Diatomaceen etc. bestehend.

Nachstehende Bezeichnungen der Untersuchungsmaterialien werden im folgenden benutzt:

Tm = Verwestes Seegras (*Fucus*, *Zostera*).

B 1 = Verwestes Laubkompost.

1) Münch. med. Wochenschr. 1904.

2) Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LII. p. 179.

3) Inaug.-Diss. Stockholm 1907. Nordiskt medicinskt arkiv.

F 1 = Bilschwasser von einem kleinen Segelschiff aus Eichenholz, spez. Gew. 1,0042.

F 2 = Bilschwasser von einem Dampfer, Eisenschiff, spez. Gew. 1,0033, Reaktion neutral.

F 3 = Bilschwasser von einem kleinen Segelschiff aus Holz, Fischladung, spez. Gew. 1,006.

F 4 = Bilschwasser von einem kleinen Segelschiff aus Holz, Fischladung, spez. Gew. 1,0064, Reaktion neutral.

M 2 = Sinkstoffe vom Boden des Norrströms in Stockholm, sehr lehmhaltig.

M 3 = Filtermasse von einem kleinen Wasserwerk (Höganäs, Skåne). Weniger gutes Rohwasser.

M 4 = Filtermasse vom Stockholmer Wasserwerk. Gutes Rohwasser.

M 5 = Filtermasse vom Stockholmer Wasserwerk.

M 8 = Filtermasse vom Stockholmer Wasserwerk.

Kl 1 = Abwasser aus einem Wohnhaus in Stockholm.

Kl 2 = Abwasser aus einem Wohnhaus in Stockholm.

Untersuchungsmethoden bei Wachstum in sterilem Nährboden.

Von Tm und B 1 wurden Extrakte folgenderweise bereitet: 1 Teil getrocknetes Tm wurde mit 20 Teilen und 1 Teil B 1 mit 5 Teilen Wasser versetzt und $\frac{1}{2}$ Stunde gekocht, darauf wurde filtriert. Die Filtrate, welche zu Kulturmedien benutzt wurden, hatten die spezifischen Gewichte von resp. 1,0062 (Tm) und 1,0042 (B 1). Die Sinkstoffe und der Wasser-

Tabelle
Wachstum der Typhusbakterie

Nährboden	No.	Datum	Kol. per Oese gleich nach der Impfung	Kolonien per Oese			
				1	2	3	4
Tm (aus Seegras)	7	2. Sept. 1905	20	0,23	3,2	—	90
Tm	25a	18. Okt. "	45	5,5	—	126	—
Tm	25b	18. " "	45	6,5	—	126	—
Tm	33a	11. Nov. "	60	—	288	—	230
Tm	33b	11. " "	60	—	360	—	280
B 1 (aus Laub)	12	30. Sept. "	45	—	21	—	—
B 1	19a	18. Okt. "	35	0,9	—	153	—
B 1	19b	18. " "	56	1	—	135	—
F 1 (Bilschwasser)	13	30. Sept. "	18	—	0,5	—	—
F 1	22	18. Okt. "	45	0,08	—	1,5	—
F 2	14	30. Sept. "	26	—	0,15	—	—
F 2	23a	18. Okt. "	45	0,02	—	0,2	—
F 2	23b	18. " "	45	0,12	—	0,3	—
F 3	15	30. Sept. "	30	—	0,55	—	—
F 3	24a	18. Okt. "	45	0,7	—	0,22	—
F 3	24b	18. " "	45	0,8	—	0,22	—
Kl 1 (Kloakenwasser)	16	6. " "	25	0,05	—	—	—
Kl 1 do. filtriert	17	6. " "	25	0,05	—	—	—
Kl 2	18	6. " "	25	0,05	—	—	—
M 2 (Sinkstoffe)	47a	7. April 1906	60	—	> 30	—	—
M 2	47b	7. " "	70	—	> 30	—	—
M 3 (Filterschlamm)	50	19. " "	35	0,7	—	—	58
M 4	51	19. " "	35	3,6	—	—	288
M 5	52	19. " "	16	2	—	—	259

filterschlamm wurden in Aufschwemmungen mit wenig Wasser verwendet. Die Extrakte, Aufschwemmungen sowie die zu untersuchenden Abwässer wurden in Reagenzröhrchen mit je 5 ccm Flüssigkeit resp. Aufschwemmung verteilt und im Autoklaven sterilisiert. Zu jedem Rohr wurde eine Oese einer Bakterienemulsion in Kochsalzlösung zugesetzt. In einem Falle wurde mit einer Extraktkultur geimpft. Von diesen Kulturen wurden zugleich nach der Impfung und nach verschiedenen Zeitintervallen quantitative Platten, wenn nötig in Verdünnungen, angelegt. Die Kulturen wurden bei einer Temperatur von etwa 24° aufbewahrt.

Folgende Tabelle zeigt das Wachstum einer im hiesigen Laboratorium lange gezüchteten Typhusbakterie in den betreffenden Stoffen. Die Röhren, welche mit „a“ und „b“ bezeichnet sind, sind gleichzeitig und möglichst gleichmäßig gemacht. Wenn mehrere Röhren gleichzeitig mit derselben Bakterienemulsion geimpft wurden, sind nicht alle Röhren gleich nach der Impfung auf ihre Bakterienzahl untersucht worden, da die Schwankungen bedeutungslos sind, so daß man für alle Röhren denselben Wert annehmen kann.

Die Zahlen beziehen sich auf eine Oese von 1,3 mg und werden, mit Ausnahme für die gleich nach der Impfung bestimmten, in Tausenden angeführt.

Das Wachstum der Cholerabakterie wird durch die Tabelle II veranschaulicht. Temperatur und Methodik sind dieselben wie die bei der Untersuchung der Typhusbakterie verwendeten.

Aus der Tabelle I geht hervor, daß der untersuchte Stamm der Typhusbakterie in Auslaugungen der vegetabilischen Komposte Tm und B 1

I.

in sterilen Nährböden.

in Tausend nach Tagen bei 24°

5	6	7	9	10	11	12 oder 13	16 oder 17	21	24	28
—	225	—	117	—	99	—	16	—	—	—
144	—	288	—	260	—	216	216	216	—	93
144	—	200	—	260	—	260	300	180	—	108
—	468	—	324	—	266	—	80	—	58	—
—	165	—	468	—	367	—	122	—	86	—
198	—	90	—	—	—	—	—	—	—	—
324	—	325	—	158	—	144	216	130	—	21
200	—	93	—	180	—	180	216	216	—	43
0,8	—	7,2	—	—	—	—	—	—	—	—
8,4	—	25	—	11,5	—	8,7	18,5	15	—	—
5,2	—	10,8	—	—	—	—	—	—	—	—
0,26	—	9,3	—	7,2	—	14,5	14,5	14,5	—	—
1	—	14,5	—	14,5	—	21,5	21,5	18	—	—
8	—	18	—	—	—	—	—	—	—	—
16	—	108	—	50	—	50	—	25	—	—
20	—	40	—	50	—	57	—	25	—	—
—	—	—	—	—	—	3,5	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	1,15	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	0	—	—	—	—
—	—	—	—	288	—	302	144	—	—	—
—	—	—	—	324	—	180	200	—	—	—
—	—	—	122	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	225	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	165	—	—	—	—	—	—	—

Tabelle
Wachstum der Cholera Bakterie

Nährboden	No.	Datum	Kol. per Oese gleich nach der Impfung	Kolonien per Oese		
				1	2	3
Tm (aus Seegras)	2	21. Sept. 1905	45	—	> 30	—
B1 (aus Laub)	14a	18. Okt. "	58	0	—	0,008
	14b	18. " "	27	0,001	—	0
F1 (Bilschwasser)	15	19. " "	—	—	8,4	—
F2	16a	19. " "	—	—	6,5	—
	16b	19. " "	—	—	7,5	—
F3	17a	19. " "	—	—	30	—
	17b	19. " "	—	—	30	—
F4	19a	27. " "	30	6	—	60
	19b	27. " "	30	12	—	72
K11 (Kloakenwasser)	11	6. " "	11	0,03	—	—
K11 filtriert	12	6. " "	11	0,012	—	—
K12	13	6. " "	11	0,04	—	—
M2	23a	7. April 1906	8	—	> 30	—
	23b	7. " "	8	—	> 30	—
M3	24a	19. " "	15	2,3	—	—
	24b	19. " "	130	20	—	—
M5	26	19. " "	0	2	—	—

sowie in den Sinkstoffen M2 wie auch in den Proben von Filterschlamm M3, M4 und M5 sehr gut gedeiht. Sehr stark ist die Vermehrung in den Röhren No. 33a und b, welche mit der Extraktkultur No. 25 geimpft worden sind.

Das Bilschwasser F1, F2, F3 scheint für die Typhusbakterie als Nährboden weniger zusagend zu sein, obgleich eine deutliche Vermehrung wahrgenommen werden kann. Im Kloakenwasser ist die Entwicklung sehr schwach, in einem Falle hat keine Vermehrung stattgefunden.

Die Cholera Bakterie (Tab. II) hat sich in Uebereinstimmung mit der Typhusbakterie in Extrakt von Seegraskompost, Tm, sowie in Sinkstoffen, M2, und Filterschlamm, M3 und M5, gut, dagegen im Kloakenwasser schlecht oder gar nicht entwickelt. Dagegen wächst die Cholera Bakterie im Bilschwasser, wo die Typhusbakterie sich nur langsam und mäßig entwickelt, sehr gut. In Laubkompost hat keine Vermehrung stattgefunden. Durch einen Zufall sind die in die Proben 15—17 eingeimpften Bakterien nicht gezählt worden, da sie aber genau so wie die übrigen geimpft wurden, kann man sicher annehmen, daß sie mit den anderen übereinstimmen.

Wachstum der Typhusbakterie bei Anwesenheit anderer Bakterien.

Es wurden mehrere Versuche gemacht, die Typhusbakterie in unsterilem Bilschwasser, Filterschlamm sowie in nicht sterilen Sinkstoffen und Düngern animalischen Ursprungs direkt zu kultivieren. Es ist aber trotz verschiedener Versuchsanordnungen nie gelungen, eine Vermehrung der Typhusbakterie in diesen Nährböden sicher zu konstatieren, wenn die Typhusbakterie mit denjenigen Bakterien und Protozoen zu konkurrieren hatte, die in den betreffenden Stoffen nach der Ankunft im Laboratorium vorhanden waren. Die Flagellaten, die große

II.

in sterilen Nährböden.

in Tausenden nach Tagen bei 24°

4	5	6	8	9	10	11	12 oder 13	16
310	—	216	—	135	—	135	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	—	—
36	—	19	—	19	—	14	—	—
135	—	260	—	160	—	72	—	—
170	—	288	—	160	—	85	—	—
126	—	230	—	100	—	—	60	—
144	—	108	—	21	—	25	32	—
—	432	—	860	—	180	—	—	—
—	360	—	648	—	144	—	—	—
—	—	—	—	—	—	—	8	—
—	—	—	—	—	—	—	6	—
—	—	—	—	—	—	—	0	—
—	—	—	—	—	144	—	160	186
—	—	—	—	—	50	—	29	36
144	—	—	—	160	—	—	—	—
1440	—	—	—	2360	—	—	—	—
216	—	—	—	190	—	—	—	—

Mengen Bakterien verzehren, spielen möglicherweise dabei eine wichtige Rolle.

Dagegen hat eine kräftige Vermehrung der Typhusbakterie in sterilisiertem Filterschlamm mit Zusatz von nicht sterilem Wasserleitungswasser stattgefunden.

Die Versuchsanordnung war dabei folgende: Filtersand wurde in einer Menge von etwa 10 ccm in Reagenzröhrchen gefüllt, darauf wurden etwa 5 ccm Filterschlamm gelegt und das Ganze im feuchten Zustande im Autoklaven sterilisiert. Zu der sterilen Masse wurde so viel nicht steriles Wasserleitungswasser zugesetzt, daß das Wasser ein wenig über der Oberfläche des Filterschlammes stand. Dazu waren 2—10 ccm Wasser nötig, je nach der verschiedenen Feuchtigkeit. Darauf wurde mit einer Oese einer Emulsion der Typhusbakterie in Kochsalzwasser geimpft. Die Zahl der eingeimpften Individuen wurde durch Plattengießen von einer Verdünnung der Kochsalzwasseremulsion bestimmt. Dieses Verfahren scheint zweckmäßiger zu sein als eine direkte Bestimmung der Individuenzahl in einer Oese des Kulturgemisches, die eine gleichmäßige Verteilung der Bakterien voraussetzt. Eine solche Verteilung ist in diesem Falle unmöglich zu erreichen, ohne den Filterschlamm mit dem Sande zu vermischen und die kleinen Klümpchen von Filterschlamm ganz zu zerkleinern, was möglicherweise auf das Wachstum der Typhusbakterie einwirken kann. Einige Kulturen, welche gleich nach der Impfung gründlich gemischt wurden, gaben nämlich alle negative Resultate, während die Kulturen, die die ersten Tage unberührt waren, gewöhnlich positive Resultate gaben. Da Zufälligkeiten bei der Kultur im nicht sterilen Nährboden eine große Rolle spielen müssen, kann man doch nicht in diesem Falle sicher einen ursächlichen Zusammenhang zwischen dem Umrühren und dem ausbleibenden Wachstum der Typhusbakterie annehmen.

Die Typhusbakterien in Mischkultur wurden nach dem Blauagarverfahren gesucht. Eine Oese (3 mg) der etwas umgerührten Kultur wurde mit 5 ccm Bouillon verdünnt und eine gemessene Menge dieser Verdünnung wurde, wie gewöhnlich, mit einem Glasstab auf der Oberfläche einer Blauagarplatte ausgebreitet. Der kleine Verlust von Bakterien, der durch das Anhaften am Glasstab entsteht, ist für die vorliegende Untersuchung belanglos.

In dem benutzten ungleichmäßigen Kulturgemisch muß man auch nach Umrühren mit einer eventuellen Anhäufung der Bakterien in gewissen Teilen der Kultur rechnen. Es wurden darum oft zwei Verdünnungen resp. Platten gleichzeitig angelegt, oder es wurden die Röhren zur Kontrolle an zwei aufeinanderfolgenden Tagen untersucht. Einige Kulturen wurden auch vom Boden untersucht, indem die Röhren unten zerschlagen wurden und eine Oese von dem untersten Teil der Masse zur Plattenkultur verwendet wurde.

Nachdem die Kolonien auf den Blauagarplatten herangewachsen waren, wurden einige Kolonien, die das typische Aussehen der Kolonien der Typhusbakterien zeigten, auf ihre Agglutinabilität mit Typhusserum untersucht. Wenn diese Probe positiv ausfiel, wurden auch die übrigen charakteristischen Kolonien als Typhusbakterienkolonien gerechnet. Hierbei macht sich aber eine Schwierigkeit geltend. Gewisse Rassen von Typhusbakterien können in ähnlichen Kulturen ihre Agglutinabilität verlieren¹⁾. In solchen Fällen müssen die Kulturen erst auf Glycerinagar umgeimpft werden, um die Agglutinabilität wieder herzustellen.

Einige Versuche, die Typhusbakterie in Büretten mit hohen Schichten von mit Filterschlamm bedecktem Sand zu züchten, sollen später besprochen werden.

In der folgenden Tabelle werden die Resultate meiner positiven Kulturversuche in Reagenzröhren angeführt. In derselben Versuchsserie gaben fast ebenso viele Versuche negative Resultate, indem die Typhusbakterie nach wenigen Tagen nicht mehr nachweisbar war. Die Zahlen beziehen sich nur auf von der Oberfläche entnommene Proben. Zwei Zahlen in einer Klammer repräsentieren zwei gleichzeitig angelegte Verdünnungen resp. Platten. Die Zahl der eingeimpften Individuen per Oese ist, wie gesagt, durch die Bestimmung der Bakterien der eingeimpften Oese berechnet, wobei die Quantität der Flüssigkeit in der Röhre zu 10 ccm geschätzt wurde. Diese Zahl ist nur eine ungefähre. Die Schwankungen derselben können aber nicht für meine Schlußfolgerungen von Bedeutung sein, weshalb ich es nicht für nötig hielt, eine exakte Wasserbestimmung des Filterschlammes zu machen.

Eine direkte Bestimmung der Bakterienzahl der Oese gleich nach der Impfung wurde in einigen Versuchen ausgeführt. Die dabei erhaltenen Zahlen waren im allgemeinen ein wenig kleiner, als die berechneten. In einem Fall war zum Beispiel die berechnete Zahl für drei gleichzeitig geimpfte Röhren 13, die bei direktem Plattengießen erhaltenen 2, 2, 7, in einem anderen war die berechnete 16 und die gefundenen 9, 5, 10.

Die Kulturen wurden bei 17—19° aufbewahrt.

Der Bakterienstamm T ist derselbe, der bei den Versuchen über das Wachstum in sterilen Stoffen angewendet wurde. Der mit G bezeichnete Stamm unterscheidet sich von T dadurch, daß er bei den Ver-

1) Vergl. Koraen, G., a. S.

Tabelle III.
Wachstum der Typhusbakterie bei Anwesenheit von Wasserbakterien.

Nährboden	Bakterien- stamm	No.	Datum	Eingeimpfte Individuen per Ose	Kolonien in Tausenden nach Tagen bei 17—19°															
					4	6	7	8	9	11	12	13	14	15	16 oder 17	18 oder 21	20 oder 23	22 oder 34	33 oder 44	40 oder 50
Sand + M3	T	18	31. Jan. 1907	20	—	24,4	4,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	33	14. März	125	—	—	{ 1 0,5	—	—	0,7	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	37	21. "	13	—	{ 40 100 30 150	—	—	—	—	—	—	—	6,2	—	—	—	—	—	—
" + "	"	38	21. "	13	—	—	—	—	—	—	—	—	—	20	—	—	—	—	—	—
" + "	"	50	2. Mai	13	54	—	—	{ 84 126	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	G	14	31. Jan.	75	60	—	—	90	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	29	26. Febr.	250	—	—	27	—	—	—	—	—	—	10	—	—	—	—	—	—
" + "	"	34	14. März	35	—	—	2,6	—	—	—	—	—	—	{ 2,7 4,8	—	—	—	—	—	—
" + "	"	41	21. "	25	—	{ 2,8 4,1 4 1,1	0	—	—	19	10	—	—	60	—	—	—	—	—	—
" + "	"	42	21. "	25	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + M8	T	19	1. Febr.	20	—	—	4,8	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	30	1. März	100	—	—	—	—	—	—	—	—	0,2	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	35	14. "	125	—	—	{ 59 60	—	—	15,5	—	—	—	22	1,9	3,3	{ 6 7	0,012	—	{ 5,5 10,5
" + "	"	39	21. "	13	—	{ 150 80	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	40	21. "	13	—	150	—	—	—	—	—	—	—	7,5	—	—	—	—	—	—
" + "	"	48	25. April	30	sehr viele > 60 400?	{ 150 196	—	—	—	50	—	—	—	—	8,4	—	—	17 18	—	—
" + "	"	52	2. Mai	13	—	—	—	{ 56 12,6	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	G	16	31. Jan.	75	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	36	14. März	35	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	43	21. "	25	—	—	1,6 0	—	—	0,4	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	51	2. Mai	14	—	—	—	{ 59 42	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—
" + "	"	—	—	—	{ 26 80	—	—	—	—	—	—	—	{ 1,4 2,8	—	—	—	—	{ 5,5 7	—	—

suchen von Koraen nie zu Inagglutinabilität zu bringen war, während T bei niedriger Temperatur dieselbe bei Kultur in gewissen Düngern verliert.

Die Tabelle III zeigt, daß eine kräftige Vermehrung der Typhusbakterie unter den betreffenden Verhältnissen stattfinden kann. In einigen Fällen sind die eingepfropften Bakterien bis auf mehr als das Tausendfache herangewachsen.

Die Typhusbakterien haben jedoch nicht die anderen Bakterien überwuchert. Wenn man die Blauagarplatten bei Zimmertemperatur stehen ließ, zeigte sich gewöhnlich eine sehr große Menge Kolonien von Wasserbakterien.

Der Konkurrenz mit den Wasserbakterien ungeachtet, sind die Typhusbakterien noch nach mehreren Wochen wiederzufinden, in einigen Versuchen sogar in beträchtlicher Anzahl.

Die Resultate des von der Bodenschicht stammenden Materials werden jetzt angeführt. Zum Vergleich werden die Bakterienzahlen der gleichzeitig von oben gewonnenen Proben rekapituliert. In Bezug auf ursprüngliche Bakterienzahl, Typhusstamm etc. wird auf Tabelle III hingewiesen.

No.	Kolonien per Oese			No.	Kolonien per Oese		
	Nach Tagen	Obere Schicht	Untere Schicht		Nach Tagen	Obere Schicht	Untere Schicht
14	44	85		37	33	{5000 5000	7 000
14	47	—	{ 60 400	38	33	{1000 3000	{ 3 000 3 500
34	40	{26 000 45 000	{26 500 40 000	40	33	{7000 8000	{ 1 500 2 500
35	40	{5 500 10 500	{ 100 0	43	33	{5500 7000	26 000

Diese Zusammenstellung zeigt, daß die Typhusbakterienzahl in älteren Kulturen im oberen und unteren Teil der Röhre oft ziemlich gleich ist, obwohl die untere Schicht nur aus Sand besteht. In den Proben No. 35 und 43 weichen die beiden Zahlen sehr voneinander ab; in No. 35 sind die Typhusbakterien! in der oberen Schicht weit zahlreicher, als in der unteren, in No. 43 ist das Umgekehrte der Fall. Es ist denkbar, daß dies mit der verschiedenen Entwicklung der Wasserbakterien zusammenhängt. Die von der Bodenschicht angelegten Platten von No. 35 waren nach Aufbewahrung bei Zimmertemperatur von Wasserbakterien ganz überwuchert; die entsprechenden Platten von No. 43 zeigten aber nur Typhusbakterienkolonien. Dagegen waren auf den von der oberen Schicht angelegten Platten beider Kulturen viele Kolonien von Wasserbakterien zu sehen. Das letztere war auch der Fall mit den entsprechenden Platten von No. 34, 37, 38, 40 und 43.

Von diesen Kulturen enthielten die Bodenschichten von No. 34 und 40 keine Wasserbakterien, die auf den Blauagarplatten zum Vorschein kommen konnten. In den Bodenschichten der No. 37 und 38 waren aber solche Bakterien vorhanden.

Um zu sehen, ob die Typhusbakterie eine höhere Schicht von Sand durchwuchern könne, und wie ein wiederholter Zusatz von nichtsterilem Wasser einwirken würde, sind folgende Versuche gemacht worden.

Drei Büretten wurden bis auf eine Höhe von 23—25 cm mit Filter-

sand gefüllt, darauf wurde Filterschlamm 3—4 cm hoch geschichtet und das Ganze im feuchten Zustande in dem Autoklaven sterilisiert. Die Büretten waren mit Gummischlauch und Klemme verschlossen. Der Sand wurde durch eine kleine Schicht von Glaswolle zurückgehalten. Nach dem Erkalten wurden zu jeder Bürette 10 ccm nichtsterilen Wasserleitungswassers zugesetzt und mit einer Oese einer Typhusbakterienemulsion in der oberen Schicht geimpft. Das Wasser reichte nach der Impfung 2—4 cm über die Schlammschicht. Die Büretten mit den Nummern 53, 54 und 55 bezeichnet, wurden bei Zimmertemperatur aufbewahrt.

No. 53 enthielt den Filterschlamm M3 und wurde mit dem Typhusstamm G geimpft. Die eingeimpfte Oese entspricht 39 000 Bakterienindividuen. Nach 9 Tagen wurde eine Probe von der Oberfläche genommen, darauf wurden 8 ccm der in der Bürette enthaltenen Flüssigkeit abgezapft und eine Oese derselben zur Plattenkultur verwendet. Die Blauagarplatten gaben für die obere Schicht 3000 und 5000, für die abgezapfte Flüssigkeit 275 und 500 Kolonien per Oese. Nach 11 Tagen wurden 10 ccm nichtsterilen Wasserleitungswassers zugefügt und nach 13 Tagen wurden 5 ccm Flüssigkeit abgezapft und untersucht. Diese Flüssigkeit enthielt 4000 Individuen der Typhusbakterie per Oese. Nach 14 Tagen wurden noch 15 ccm Flüssigkeit abgezapft und 20 ccm sehr verunreinigtes Wasser aus dem Mälaren-See zugesetzt. Zwei Tage nach dem Zusatz von Mälarenwasser, also bei einem Alter der Kultur von 16 Tagen, waren keine Typhuskolonien auf den Blauagarplatten zu finden.

In diesem Versuche hat sich also die Typhusbakterie reichlich vermehrt, obgleich die eingeimpfte Bakterienzahl und die vorhandene Menge von Filterschlamm sehr gering war und nichtsteriles Wasserleitungswasser reichlich zugesetzt wurde. Gegen die Bakterien des Mälarenwassers sind die Typhusbakterien nicht konkurrenzfähig gewesen. Der Mälaren-See ist bei Stockholm verunreinigt und enthält große Mengen von Bakterien.

Der Versuch No. 54 war in derselben Weise wie 53 angeordnet, nur wurde mit Typhusstamm T geimpft. In diesem Fall konnten keine Typhusbakterien in der abgezapften Flüssigkeit (1 ccm) nachgewiesen werden.

Im Versuch No. 55 war der Filterschlamm M8 und der Typhusstamm T benutzt. Die eingeimpfte Oese enthielt 36 000 Individuen. Nach 9 Tagen wurde ca. $\frac{1}{2}$ ccm der Flüssigkeit zur Untersuchung entnommen. Die Flüssigkeit tropfte nur sehr langsam ab, auch wenn die Klemme ganz geöffnet wurde, was darauf hindeutet, daß die Schlammschicht für das Wasser schwer durchgängig war, so daß die Flüssigkeit vorher als stillstehend betrachtet werden konnte. Die abgezapfte Flüssigkeit enthielt 700 Typhusbakterien per Oese, die Platten der oberen Schicht zeigten 120 000 und 200 000 Kolonien per Oese. Nach 13 Tagen war die Zahl der Bakterien in der abgetropften Flüssigkeit auf 5600 per Oese gestiegen.

Die Typhusbakterien scheinen also in diesem Fall die hohe Sandschicht durchwuchert zu haben. Da so wenig Flüssigkeit abgezapft wurde, scheint es nicht wahrscheinlich zu sein, daß die Bakterien nur mit dem abfließenden Wasser von dem oberen Teil der Bürette mitgeschleppt wurden.

Versuche mit Cholerabakterien.

In einigen Versuchen ist eine Vermehrung der Cholerabakterie in nichtsterilem Bilschwasser und in mit nichtsterilem Wasser versetzten Filterschlamm konstatiert worden. Die Zahl der Cholerabakterien im Bilschwasser wurde durch Anlegen von gewöhnlichen quantitativen Agarplatten bestimmt. Die zu untersuchenden Kolonien wurden in Bouillon geimpft, die nach dem Wachstum durch die Cholerarotreaktion geprüft wurde. Bei den Versuchen mit Filterschlamm wurde dieselbe Methode gebraucht, die bei den Untersuchungen über die Typhusbakterie zur Verwendung kam. Die Kolonien der Cholerabakterien auf Blauagar sind sehr charakteristisch.

Die Versuche, welche sicher positive Resultate gaben, werden unten angeführt.

In den folgenden Versuchen mit Bilschwasser wurde die geimpfte Flüssigkeit entweder in Pasteur-Pipetten eingeschmolzen oder im Reagenzrohr mit Oel bedeckt, weil der freie Luftzutritt unvorteilhaft einzuwirken schien. Eine Oese enthielt nach der Impfung 10—20 Individuen. Temperatur 37°.

Bezeichnung des Bilschwassers	Kolonien per Oese		Bemerkungen
	nach Tagen		
F 4	1	etwa 1300	Reagenzrohr
F 4	2	„ 100	Eingeschmolzen
F 4	2	„ 500	„
F 2	2	„ 400	„

Es wurden nur wenige Versuche gemacht, die Cholerabakterie in Filterschlamm mit Zusatz von nichtsterilem Wasser zu züchten. Zwei solcher Versuche sind jedoch von Interesse.

Nährboden	Kolonien per Oese nach Tagen bei 17—19°			
	0	4	9	14
Sand + M 3	10	{ 700 900	{ 100 400	{ 200 200
Sand + M 8	10	{ 1000 1700	2500	{ 6500 5000

Es hat also eine deutliche Vermehrung der Cholerabakterie sowohl im nichtsterilem Bilschwasser wie im Filterschlamm mit Zusatz von nichtsterilem Wasser stattgefunden.

Zusammenfassung der Resultate.

Die Typhusbakterie vermehrt sich reichlich in sterilen Extrakten von verwestem Seegras und Laub, ebenso in den untersuchten Sinkstoffen und im Filterschlamm, weniger im Bilschwasser und kaum im Kloakenwasser.

Die Cholerabakterie vermehrt sich reichlich in sterilen Extrakten von verwestem Seegras, ebenso in den Sinkstoffen, im Filterschlamm und Bilschwasser. Das Kloakenwasser war ihr weniger zusagend. Im Extrakt von Laubkompost hat keine Vermehrung stattgefunden.

Die Typhusbakterie kann sich in Filterschlamm bei Anwesenheit von Wasserbakterien stark vermehren und hat sich in einer mit Filter-

schlamm bedeckten hohen Sandschicht auch zu den unteren Teilen desselben verbreitet.

Die Versuche über das Wachstum der Cholerabakterie bei Anwesenheit anderer Bakterien müssen weiter verfolgt werden, sie deuten aber darauf hin, daß eine Vermehrung der Cholerabakterie in nicht-sterilem Bilschwasser sowie in Filterschlamm mit Zusatz von nichtsterilem Leitungswasser unter Umständen stattfinden kann.

Nachdruck verboten.

Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladotrix putridogenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute der Universität zu
Kolozsvár (Direktor: Prof. Buday).]

Von Dr. D. Veszprémi, Privatdozenten und I. Assistenten.

Mit 4 Tafeln.

(Schluß.)

Wenn wir diejenigen Beschreibungen, worin die verschiedenen Autoren den *Fusiformis* charakterisieren, streng beurteilen, müssen wir zu der Ueberzeugung gelangen, daß hinsichtlich der Form und Größe solche charakteristische und ständige Verschiedenheiten, die eine mehrfache Einteilung zuließen, nicht existieren. Es können nämlich gerade in ein und demselben Falle verschieden lange und dicke, spindelförmige Bacillen gefunden werden. Oder es sehen jene Bacillen, die bei verschiedenen pathologischen Prozessen vorkommen und in ihrer Form und Größe ein wenig voneinander abweichen, in Kulturen ganz gleich aus, ohne jeden nennenswerten Unterschied. Diesbezüglich verweisen wir auf Uffenheimers Zeichnungen und Eichmeyers Abbildungen (Taf. I, Fig. 5), die aus Anginafällen gezüchtete fusiforme Bacillen darstellen, und zum Vergleich auf unsere Abbildungen, die teils aus eitrigen, teils aus gangränösen Exsudaten gezüchtete Bakterien zeigen. Während also in jungen Kulturen gar kein Unterschied in Größe und Form bemerkbar ist, kann in pathologischen Produkten die Länge der Bacillen, wie im Laufe unserer eigenen Untersuchungen, zwischen 4 bis 12 bis 15 μ wechseln. Sicher kann aber eine solche Verschiedenheit nicht auf Klassenunterschiede, sondern nur auf verschiedene Entwicklungsstadien zurückgeführt werden. Eichmeyer, der außer seinen vielzähligen eigenen Beobachtungen auch eine sehr große Literatur verarbeitet hat und so in dieser Hinsicht eine große Uebersicht besitzt, teilt sie ihrer Länge nach in 3 Klassen. Von diesen können wir, wenn wir auch die 4—8 μ und 8—12 μ langen Arten auf jeden Fall anerkennen, jene, die er als 50—100—150 μ lange Fäden charakterisiert, nicht als dahingehend betrachten. Uebrigens will auch Eichmeyer diese nicht für verschiedenartige halten, sondern sucht vielmehr die Ursache der Verschiedenheiten im Entwicklungsstadium: „Es lassen sich demnach 3 Formen bezw. „Entwicklungsstadien“ der fusiformen Bacillen unterscheiden.“ Aber auch in den Färbungsverhältnissen können wir

keine sichere Grundlage für ihre Unterscheidung finden, wobei bloß die Gram- oder Weigertsche Färbungsmethode maßgebend sein kann. Es genügt, nur kurz darauf hinzuweisen, daß schon aus unseren Untersuchungen sichtlich hervorgeht, daß sich die Fusiformen zuweilen mehr oder weniger intensiv, ein andermal dagegen gar nicht färben; daß es auf Deckglaspräparaten, sie nach Gram oder Weigert zu färben, kaum gelang, während sie im Gewebe verhältnismäßig viel eher die Farbe behielten. Wenn nun der nämliche Bacillus nicht nur unter verschiedenen Verhältnissen, sondern auch noch unter ähnlichen sich so launenhaft gegen spezielle Färbungsmethoden verhält, können wir ganz getrost annehmen, daß die Unterscheidung der Bacillen, die aus verschiedenen Fällen stammen, auf Grund ihres Verhaltens der erwähnten Färbungsmethode gegenüber nicht möglich ist. Ihre biologischen Eigenschaften wurden, weil ihre Reinkulturen fehlen, viel zu wenig studiert, als daß man diese verwerthen könnte. Allein in der aeroben oder anaeroben Art ihrer Züchtung waren einige Unterschiede, aber auch diese bestanden, wie wir oben dargelegt haben, nur scheinbar. Ebenso kann man auch in ihrer Bewegungsfähigkeit noch keinen sicheren Unterschied feststellen. Denn wir konnten zwar an den aus Anginafällen stammenden Fusiformen Geißelfäden nachweisen, an denen wir auch tatsächlich eine sehr lebhaft bewegte Beobachteten, aber wieder wiesen wir Geißeln, also zweifellos Bewegungsorgane, auch an unseren Fusiformen nach, konnten dagegen von ihrer Seite keine Bewegung wahrnehmen. Uebrig wäre noch die Verschiedenheit der pathologischen Prozesse, die mit ihnen in kausalen Zusammenhang gebracht werden können, zu berücksichtigen. Schon Vincent betont, daß die in Fällen von Spitalbrand gefundenen Fusiformen mit den bei Angina vorkommenden identisch seien, und diese Ansicht macht sich sozusagen jeder Forscher zu eigen nicht nur hinsichtlich des Spitalbrandes, sondern auch jeden anderen solchen putriden, zu Gangrän neigenden Prozeß betreffend, wo fusiforme Bacillen gefunden werden können. Mit noch mehr Recht können es diejenigen behaupten, die sich mit der Bakteriologie des Mundes und des Rachens beschäftigt haben. Im allgemeinen können wir also sagen, daß solche Beobachtungen, solche Erfahrungen nicht existieren, auf Grund deren irgend einer der Autoren hätte den Standpunkt einnehmen können, daß die Verschiedenheit der Krankheiten auch zugleich eine Unterscheidung der fusiformen Bacillen zuließe. (Wie es scheint, ist dies auch der Grund davon, daß der Name des Bakteriums derselbe ist; wenn man große Verschiedenheiten hätte finden können, so würde dieses sicher auch in der Benennung seinen Ausdruck gefunden haben.) Gerade an solcher Stelle kommen klinisch und anatomisch sehr verschiedene Prozesse vor, bei denen es in Wirklichkeit unwahrscheinlich wäre, an verschiedenartige Fusiformen zu denken, namentlich in der Mundhöhle und Rachenhöhle, teils bei ihren pseudomembranösen oder ulcerösen, teils bei ihren eiterigen oder gangränösen Entzündungen, beim Noma. Deshalb halten wir auch Babes' Einteilung, der 3 Varietäten unterscheidet, nicht für genügend und annehmbar. Nämlich I. die bei Angina vorkommenden Arten, zu welchen seiner Meinung nach auch die z. B. bei Skorbut gefundenen gehören; dann bildeten eine II. Gruppe die anaerob gedeihenden und sich nach Gram färbenden, schließlich als III. Gruppe die bei manchen akuten, eiterigen, örtlichen oder allgemein septischen oder pyämischen Prozessen eine Rolle spielenden Fusiformen. Wenn wir daneben noch in

Betracht ziehen, daß die aus unserem Falle stammenden Fusiformen in gleicher Art bei künstlich hervorgerufenen eiterigen und gangränösen Entzündungen nachgewiesen werden konnten, gleichgültig ob die Infektion mit menschlichem Material oder mit Kulturen stattfand, ferner wenn wir beachten, daß die anfangs bestimmt eiterige Entzündung später in Gangrän überging und ebenfalls mit reichlichem Befund von fusiformen Bacillen, so müssen wir behaupten, daß wir auch auf Grund der pathologischen Prozesse solche Unterschiede nicht feststellen können, die zur Annahme von mehreren Varietäten berechtigten. Um so mehr können wir das behaupten, da wir ja, wenn es sich auch um klinisch und anatomisch voneinander stark abweichende Prozesse handelt, doch auch mit anderen Umständen rechnen müssen, so z. B. mit den Virulenzverschiedenheiten der Fusiformen, mit der veränderten Widerstandsfähigkeit der Gewebe, mit den Wirkungen anderer in Gesellschaft der Fusiformen lebenden Mikroben. Obgleich auf Grund unserer Erfahrungen und des eben Gesagten die Annahme, daß die Verschiedenheiten der pathologischen Prozesse nicht so sehr von mehreren Varietäten der fusiformen Bacillen als vielmehr von anderen Umständen verursacht werden, sehr wahrscheinlich scheint, möchten wir es dennoch als eine offene Frage betrachten, die mit Bestimmtheit nur durch spätere Erfahrungen beantwortet werden kann.

Spirochaeta gracilis.

Die in unserem Falle und in unseren Versuchen gefundenen Spirochäten haben eine ziemlich verschiedene Länge, sind durchschnittlich 9–12 μ lang, mit sehr feinen, gleichförmigen Windungen, deren Anzahl ebenfalls verschieden ist; sie zeigen meistens 6–10–12 Windungen, aber es kommen auch solche, die weniger oder mehr Biegungen besitzen, beständig vor. Sie sind auffallend fein, dünn und besonders in Kulturen waren sie so außerordentlich fein und färbten sich so blaß, daß sie kaum erkannt werden konnten. In solchen Fällen zeigen sie sehr dichte und außerordentlich feine Windungen, ihre Enden sind immer zugespitzt. Bezüglich der Färbung stimmen unsere Beobachtungen mit der einstimmigen Meinung sämtlicher Autoren vollkommen überein, daß nämlich die Färbbarkeit der Spirochäten nach den gebräuchlichen Methoden sehr gering ist. Sie färben sich, gleichgültig mit welcher Farbe, immer viel blasser als die Bakterien im allgemeinen. Noch am besten können sie mit verdünntem Ziehlschen Karbolfuchsin gefärbt werden. Uns gelang es zwar, nach Gram, wenn wir die Lösung stark kochten, ziemlich intensiv gefärbte Spirochäten zu bekommen (Fig. 12, 21 und 24). Ein Nachteil dieses Verfahrens und der Van Ermengenschen Geißelfärbung ist der beträchtliche Niederschlag in den Präparaten. Nach der gewöhnlichen Gram- oder Weigertschen Methode blieben die Spirochäten in unseren Präparaten, wenn wir auch durch sehr kurze Zeit hindurch entfärbten, ganz ungefärbt. Man kann also mit Recht behaupten, daß Gram negativ ist. Im Gewebe färben sie sich am besten mit verdünntem Karbolfuchsin, wie das Buday in Erfahrung brachte, ebenso können sie gut nachgewiesen werden mit Levaditis Silberimprägnation (Fig. 30 und 31). In histologischen Präparaten können nur sehr feine, 4–5 μ dicke Celloidin- und 1–3 μ dicke Paraffinschnitte verwendet werden. Es gelang uns niemals, ein solches Gebilde zu sehen, das wir für ein Chromatinkörnchen oder einen Kern hätten ansehen können, wie

man es z. B. bei Giemsa-Färbung in der *Spirochaete pallida* oft zu sehen bekommt. Es zeigten sich ferner auch keine solchen Veränderungen, die man z. B. in Involutionsformen der Mikroben wahrnehmen kann, nämlich grobe Gestaltsveränderung, unregelmäßige Färbung, Auftreten von Körnchen und von Vakuolen etc. Höchstens würden also jene unter unseren Spirochäten den Involutionsformen entsprechen, die derber und plumper sind und sich im allgemeinen dunkler färben, aber auch ihre Färbung fanden wir meistens gleichmäßig. Eichmeyer erwähnt zwar: „Unter den Spirochäten kommen ebenfalls ungleichmäßig gefärbte Formen vor, die ein gekörnelttes Aussehen zeigen und meist dann auch ihrer Konturen verlustig gegangen sind. Es handelt sich hier zweifelsohne um Involutionsformen“. Solche zu sehen, haben wir aber niemals Gelegenheit gehabt.

Unter den biologischen Eigenschaften unserer Spirochäten haben wir, was die Züchtung auf künstlichem Nährboden betrifft, erfahren, daß sie in den Kulturen immer ziemlich schwer und spät gediehen, und zwar in den ersten Generationen nach 6—7 Tagen, in den späteren schon nach 3—4 Tagen, offenbar infolge ihrer Akkommodation. Das kann so erklärt werden, daß andere Bakterien — Kokken, Fusiforme etc. — zunächst den Nährboden für die Vermehrung der Spirochäten geeignet machen mußten. Also nur nach einer gewissen chemischen Veränderung des Nährbodens findet die Spirochäte ihre Lebensbedingungen. Eine selbständige Ortsveränderung der Spirochäten konnten wir im menschlichen Material nicht finden; in den aus Kulturen oder dünnem ichorösen Eiter hergestellten Nativpräparaten verschwanden sie, wenn es uns auch hie und da gelang, eine dem Schwimmen des Aales ähnliche Bewegung einige Momente lang zu sehen, bald unseren Augen. Gewöhnlich konnten wir aber in ungefärbten Präparaten Spirochäten überhaupt nicht sehen, obgleich sie nach der Färbung in demselben Präparate in großer Anzahl nachgewiesen werden konnten. Die Ursache davon kann, wie wir glauben, nichts anderes sein, als die außerordentliche Feinheit der Spirochäten und der Umstand, daß die Verschiedenheiten in der Brechung des Lichtes nicht groß genug sind, um sie wahrnehmen zu können. Eben deshalb verfügen wir, obgleich es auch uns sicher erscheint, daß die Spirochäten bewegungsfähig sind, über positive Erfahrungen nicht. Wir müssen diesem noch hinzufügen, daß wir weder eine undulierende Membran, wie Schaudinn und in neuester Zeit auch Hoffmann annehmen und zeichnen, noch Geißelfäden irgend einmal wahrzunehmen vermochten. Hinsichtlich der letzteren haben wir sehr genau unsere nach Loeffler und Van Ermengem gefärbten Präparate untersucht, in welchen z. B. die fusiformen Bacillen eine sehr schöne Geißelfärbung aufwiesen; eben von den nach Van Ermengem gefärbten Präparaten hätten wir in dieser Hinsicht am meisten einen positiven Erfolg erwartet, da es Zettnow gelungen ist, sowohl an Hühnerspirochäten als auch an Recurrensspirochäten ebenfalls mit der Silberimprägnation Geißelfäden nachzuweisen. Infolgedessen scheint Schaudinns Annahme, daß nur die *Spirochaete pallida* Geißeln besitze und sich eben dadurch von sämtlichen anderen Spirochätenarten, die nicht mit Geißeln, sondern immer nur mit einer undulierenden Membran — Periplast — versehen sind, scharf unterscheiden, unwahrscheinlich. Schaudinn behauptet zwar, daß es ihm gelungen sei, an den Spirochätenarten, die außer bei Lues auch bei anderen Prozessen vorkommen, mit Loefflerscher Beize solche Präparate zu erhalten, in

welchen „der Periplast als deutlich „spiraliger“ heller Saum die den Kernapparat im Entoplasma enthaltende, mit Loefflerscher Beize tief schwarzrot gefärbte Achse des Organismus umgibt“. Bezüglich der *Pallida* aber: „Der Periplast scheint nur „ringsum gleichmäßig“ entwickelt, sich an beiden Enden verjüngend, in die Geißeln auszulaufen, die etwa die Länge von 4—6 Windungen des eigentlichen Spirochätenkörpers besitzen.“ Nach Schaudinn und auch Hoffmann wäre noch eine wichtige Eigenschaft der Spirochäten diejenige, daß diese im Querschnitt mehr platt, also in ihrem Verlauf bandförmig waren, im Gegensatz zu der *Pallida*, deren Querschnitt immer kreisrund ist, ihre Gestalt also cylindrisch. Mit den Worten Schaudinns: „Zur Zeit kommt es mir vor, als ob der Körper der *Spirochaete pallida* im Querschnitt kreisrund begrenzt ist, also cylindrische, nicht bandförmige Gestalt besitzt, wie alle übrigen darauf untersuchten Spirochäten.“ Eine solche bandförmige, also von zwei Seiten abgeplattete Gestalt vermochten wir an unseren Spirochäten schon wegen ihrer Feinheit im Deckglaspräparate nicht wahrzunehmen; wir sahen dagegen in unseren Schnitten, wo Spirochäten in großer Anzahl waren, zwar dicht aneinanderliegende, punktförmige Gebilde, die wir tatsächlich für Querschnitte der Spirochäten hielten, aber jene würden, soweit unsere Augen bei einer 1000 bis 1200-fachen Vergrößerung zu urteilen vermögen, einem Kreis oder einer Ellipse entsprechen. Wir mußten uns auch auf solche scheinbar geringfügige Einzelheiten einlassen, da diese Fragen in den zusammenfassenden Arbeiten noch gar nicht berührt wurden, andererseits aber auch deshalb, weil wir die Aufmerksamkeit auf diese lenken wollten, da sie noch durch weitere Untersuchungen zu beantworten sind.

Bei der näheren Bestimmung unserer Spirochäten und bei ihrem Vergleich mit den von Anderen beschriebenen tauchen ganz dieselben Fragen auf, die wir beim *Fusiformis* aufgenommen haben. Wenn wir erwägen, daß diese beiden Mikroben sozusagen jedermann ohne Ausnahme zugleich behandelt, so gelten dieselben Annahmen und Folgerungen, die wir beim *Fusiformis* angegeben haben, größtenteils auch für die Spirochäten. Es wäre also bloß eine Wiederholung, wenn wir uns noch einmal auf sie einließen. Aber wir können nicht ohne Beachtung lassen, daß man die Spirochäten im Gegensatz zum *Bacillus fusiformis* schon durch die Benennung zu unterscheiden versucht hat. So können wir uns auf Schaudinns Benennung „*Sp. refringens*“ berufen (zum Unterschiede von der *Sp. pallida*). Was für eine Spirochätenart Schaudinn darunter versteht, hat er nicht berichtet, sie auch nicht charakterisiert, sondern er läßt nur ahnen, daß er diejenigen Arten *Sp. refringens* nennt, die man neben der *Sp. pallida* in syphilitischen Geschwüren oder auch in anderen geschwürigen Prozessen finden kann, und offenbar hält er für solche auch die im Gaumen sowie bei der Plaut-Vincentschen Angina vorkommenden. Daß er auch die im Zahnbelag vorkommende Spirochäte hierher zählt, kann man nicht sicher entscheiden, aber aus seinen, in einem vorläufigen Berichte beigegebenen Zeichnungen folgt, da er die *Sp. refringens* und *Sp. dentium* getrennt zeichnet, daß er die beiden Arten für verschieden gehalten hat. Hier wollen wir nur hervorheben, daß wir in unseren Präparaten in gleicher Weise die der einen und die der anderen entsprechenden Spirochäten gesehen haben, bezüglich deren wir auch auf unsere Abbildungen verweisen können. Tatsache ist es, daß auch solche Spirochäten sind, aus deren Benennung schon folgt, daß sie beständige

Parasiten der Mundhöhle sind. Diese nennt Miller *Sp. dentium*, *Sp. denticola*, Andere wieder *Sp. buccalis*, *Sp. oris*, die deutschen Autoren heißen sie im allgemeinen „Zahnspirochäte“. Daß die bei den pseudomembranösen oder ulcerösen Formen der Gingivitis und Stomatitis in großer Menge vorhandenen Spirochäten die nämlichen sind, wie diese, halten wir für zweifellos. Aber es wäre unbegründet, auch jene Spirochäten für andere zu halten, die bei den gangränösen Prozessen der Mundhöhle und des Gaumens — bei Noma — vorkommen, wie dieses Budays Untersuchungen beweisen, aus welchen auch die besondere ätiologische Bedeutung der Spirochäten hervorgeht. Teils das topographische Erscheinen der Krankheit, teils die Gestalt der Spirochäten betrachtend, bestärken dasselbe auch die Beobachtungen von Seiffert, Perthes, Krahn und Anderen. Denn man hält ebenso wie beim *B. fusiformis* auch jene Spirochäten, die nach den Beobachtungen von Vincent, Matzenauer, Róna etc. beim Spitalbrand, bei phagadenischen, diphtheritischen, gangränösen Entzündungen der Genitalien vorkommen, für übereinstimmend mit den bei den erwähnten Krankheiten gefundenen Spirochäten. Was nun die bei den verschiedenen Arten der Angina gefundenen Spirochäten betrifft, so unterscheiden sich diese in der Gestalt etwas von den vorigen, und zwar besonders dadurch, daß sie meistens weniger Windungen besitzen, mehr gedehnt und plump sind, sowie flache Windungen haben. Aber dieses ist keine beständige Eigenschaft, da z. B. Máthé besonders betont, daß er sehr oft in Anginafällen zu Beginn der Krankheit Spirochäten mit sehr feinen Windungen gefunden habe. Aber diese, übrigens auch nicht beständigen, geringen Unterschiede halten wir nicht für genügend und charakteristisch, um die Anginaspirochäten von den oben erwähnten als stark abweichend zu bezeichnen. Dieses bestätigt die Meinung auch anderer Beobachter, wie dies aus Eichmeyers Zusammenfassung hervorgeht, der sagt: „Ist die Identität der *Sp. dentium* mit dem Schraubenbakterium der Angina Plauti und der Stomatitis ulcerosa mehr als wahrscheinlich.“ Um so mehr scheint dieses annehmbar, als auch unsere Erfahrung hierfür spricht. Es gelang uns nämlich, aus ein Paar ausgesprochenen Angina ulceromembranosa-Fällen die Spirochäten auf den schon erwähnten Nährböden zu züchten (darunter auch der IV. Fall Máthés) und in diesen Spirochäten zu finden, die mit ebenso feinen, kleinen, gleichmäßigen Windungen versehen waren, und sich von unseren Spirochäten in keiner Beziehung unterscheiden. Hieraus geht hervor, daß diese kleinen, falls wahrnehmbaren Unterschiede der Spirochäten, wenn sie in pathologischen Produkten auch nicht gerade immer vollkommen miteinander übereinstimmen, sich in den Kulturen ganz verlieren. Wir gestehen aber, daß es auch uns ein wenig gewagt erscheint, die bei klinisch und anatomisch so verschiedenen Prozessen eine Rolle spielenden Spirochäten für eine Art zu halten; wenn wir aber aus den beim *B. fusiformis* dargelegten Gründen denselben Standpunkt einnehmen, können wir es mit den Spirochäten auch nicht anders machen. Wenigstens so lange nicht, bis wir für das Gegenteil nicht ebenso viele und gewichtige Beweise haben.

Indem wir also dem Gesagten zufolge unsere Spirochäten mit denen, die bei den oben angeführten verschiedenen Krankheiten vorkommen, für identisch halten müssen, fügen wir dem noch hinzu, daß auf Grund unserer bisherigen Kenntnisse zwischen den bei beiden schon öfter erwähnten pathologischen Prozessen vorkommen-

den Spirochäten — ebenso wie beim *B. fusiformis* — ständige und scharfe Unterschiede überhaupt nicht festgestellt werden können. Wir haben daher vorläufig kein Recht, Klassenunterschiede anzunehmen und die von uns auf künstlichem Nährboden gezüchtete und „*Spirochaeta gracilis*“ benannte Form von der *Sp. dentium* abzusondern.

Unwillkürlich taucht nun die Frage auf, ob es eigentlich richtig und begründet ist, von der Benennung „*Sp. dentium*“, die Miller zuerst gebraucht hat, und ihren Synonymen abzuweichen? Miller fand die Spirochäte beim Studieren der Bakterienflora im Zahnbelag beständig, und zwar zu einer Zeit, wo diesbezügliche Kenntnisse ganz fehlten, und benannte sie auch zutreffend. Aber aus den späteren, vielseitigen Untersuchungen ging hervor, daß man diese Spirochäten-Art nicht ausnahmslos für einen Mikroben des Zahnbelages oder der Mundhöhle halten könne, sondern daß, was Form und Größe anbelangt, ganz ähnliche Spirochäten auch anderswo vorkommen. Abgesehen von solchen Veränderungen in den Atmungs- und Verdauungsorganen, wo man Spirochäten finden konnte, und die vielleicht mit der Mundhöhle in einem gewissen Zusammenhang stehen, waren sie auch in solchen Fällen zu finden, wo man überhaupt nicht feststellen und beweisen kann, daß die hier gefundenen Spirochäten nur aus der Mundhöhle hierher gelangen könnten. Uebrigens haben bereits mehrere auch an solchen Stellen des menschlichen Organismus, die mit der Mundhöhle nicht in direkter Verbindung stehen, selbst unter normalen Verhältnissen, ganz ähnliche Spirochäten gefunden. Auch wir sahen z. B. sie nicht nur einmal an den äußeren Genitalien, im Sekret der Vagina, ja sogar auch im wasserklaren Schleim des Cervixkanales, namentlich einmal in sehr großer Menge. Gerade aus diesen Gründen hielten wir es für angezeigt, die nach ihrem Fundort gewählte Bezeichnung zu vermeiden und sie auf Grund ihres unter gewissen, beständigeren biologischen Verhältnissen, namentlich in Kulturen bewiesenen Verhaltens und besonders wegen ihrer Feinheit „*Spirochaeta gracilis*“ zu nennen.

Cladothrix putridogenes.

Wir wollen im folgenden den bei Mitteilung des bakteriologischen Befundes unseres Falles und der Versuche immer zugleich behandelten und unter „Bacillenformen“ und „Fadenbakterien“ angeführten Mikroorganismus zusammenfassend charakterisieren.

Es sind sehr verschiedene, 1–2, 5–6 μ lange, stäbchenförmige Gebilde, die entweder gerade sind oder ein wenig steif gebogen und mehr oder weniger geknickt. Ihre häufigste Gestalt ist die S-förmige, die oft unregelmäßig ist, die eine Hälfte ist kürzer als die andere. Manchmal zeigen sie eine, mit nach außen gebogenen Schenkeln versehene V-Gestalt, von den Schenkeln des V ist oft der eine kürzer oder ein gerader oder kommaartiger Bacillus, der andere länger steif S-förmig (Abb. 4, 5, 17 etc.). Eine andere Varietät erscheint in Ketten, die aus meistens gleich langen Bacillen bestehen (Abb. 5) und z. B. mit den Anthraxketten verglichen werden können. Ein anderer Teil bildet in Exsudaten 20–30 μ lange Fäden, die unregelmäßig gebogen oder mehrere Male gekrümmt sind (Abb. 17–20). Die Beugung oder Krümmung ist wie eine gebrochene Linie, dadurch entstanden, daß die einzelnen Krümmungen durch verschiedene, 1–2 oder 5–10 μ oder noch längere Glieder verursacht werden, die dann oft in verschiedene Richtungen laufende Abschnitte

bilden. In mehrtägigen Kulturen kann man auch sehr lange, ja sogar 50—100 und mehrere 100 μ überschreitende Fäden finden (Abb. 28) und ebenso auch in den eiterigen Exsudaten. Die Enden sowohl der Fäden als auch die Bacillen sind teils abgerundet, teils abgeschnitten. Diesbezüglich meinen wir, daß die mit abgerundeten Enden solche Bacillenformen sind, die noch nicht zu Fäden ausgewachsen sind, während die scharf abgeschnittenen die einzelnen Glieder der abgebrochenen Fäden darstellen. Beim Zertallen der Fäden in Bacillen spielt sicher eine große Rolle das mehr oder weniger grobe Zerreiben und Aufstreichen des Untersuchungsmaterials beim Herstellen von mikroskopischen Präparaten, wobei aber dies Verhalten auch eine charakteristische naturgeschichtliche Eigenschaft der Fäden selbst sein kann. Ihre Involutionsformen sind teils mehr oder weniger geschwollen, teils gleichmäßig dick, aber sie sind gefüllt mit in Längsreihen gestellten, kokkenartigen Körnchen, oder sie zeigen in den blaß gefärbten Fäden verschieden lange, stark gefärbte Abschnitte, wodurch sie an die auf Landkarten in gewohnter Weise gezeichneten Eisenbahnlinien erinnern. Zuweilen sind ihre Enden stärker geschwollen, wodurch sie dann etwas keulenförmige Gestalten bilden (Abb. 13, 22, 29).

Wir fanden, daß sie sich mit den gewöhnlichen Anilinfarben leicht und gut färben. Der Gram- und Weigertschen Färbung gegenüber verhalten sie sich nicht immer gleich, aber sie unterscheiden sich wesentlich vom *B. fusiformis* dadurch, daß die Involutionsformen der Fäden — während sich die des *Fusiformis* intensiver färben — stark abblässen oder sich auch vollkommen entfärben und nur die in ihnen enthaltenen Körnchen die Farbe behalten. Die Fadenbakterien und die Bacillenfragmentationen aus Exsudaten färben sich nach Gram und Weigert genügend gut; aber auch in solchen Präparaten können immer auch gleichmäßig entfärbte Fäden gefunden werden. In aus Kulturen gemachten Präparaten dagegen gelingt die Färbung oft gar nicht. Im Gewebe zeigen sie ebenfalls ein ähnliches Verhalten. Nachdem im Sinne des oben Gesagten diese Fadenbakterien kein beständiges Verhalten der Gram-Weigertschen Methode gegenüber zeigen, meinen wir auch nicht, daß diese Methode so zuverlässig und zum Unterscheiden von ähnlichen anderen Mikroben benutzt werden könnte, obgleich es im allgemeinen doch scheint, daß die Gram-Weigertsche Methode im menschlichen Material und Gewebe ein positives Resultat gibt.

Ihre Züchtung gelingt bei einer Temperatur von 37°. (In einem Fall auf Zuckeragar in streng anaërober Weise.) In den Kulturen gedeihen die Bacillenformen namentlich in den ersten Tagen, und nur nach 3—5 Tagen wachsen sie auch zu kürzeren oder längeren Fäden in größerer Anzahl aus. In älteren Kulturen unter ihnen kann man schon viele Involutionsformen finden, die oft sehr unregelmäßig geschwollen sind, fast varicenartig, zuweilen an einer oder der anderen Stelle kugelförmig aufgetrieben, und die nicht nur Körnchen, sondern auch kleine Vakuolen enthalten. In einem Deckglaspräparate, das aus einer Kultur hergestellt wurde, sahen wir auch zahlreiche aufgetriebene, entartete Bacillen, in denen sich bei Sporenfärbung rundliche oder ovale Gebilde zeigten. Es scheint sehr wahrscheinlich, daß dies wirklich Sporen gewesen sind und daß diese Fadenbakterien sich tatsächlich durch Sporenbildung vermehren; da es uns aber nicht gelang, sie auch in weiteren Präparaten resp. Kulturen zu finden, wagten wir nicht, sie mit Bestimmtheit für Sporenbakterien zu erklären. Eigenbewegung haben wir niemals

gesehen, noch an ihnen Geißeln bemerkt. Was ihr Verhalten in Kulturen betrifft, so verweisen wir auf das im III. Abschnitt Gesagte.

Eine weitere charakteristische und schon mit freiem Auge sichtbare Eigenschaft ist ihr Vorkommen in Körnern. Namentlich war dies der Fall in von Menschen stammendem Eiter, aber fast in ebensolchem Maße und ziemlich beständig auch bei eiterigen Prozessen der Tiere. Sie behielten diese Eigenschaft auch bei Züchtung auf große Mengen Blutserum enthaltenden Nährböden. Ganz beständig können wir diese Körnerbildung deshalb nicht nennen, denn obgleich sie in den erwähnten Fällen vorkam, fehlte sie bei gangränösen oder ichorösen Prozessen, oder blieb aus, sobald die eiterige Entzündung in eine der letzteren Formen überging. Die Körner sind verschieden groß; diejenigen, die schon mit freiem Auge erkannt werden können, bestehen in Wirklichkeit aus mehreren kleinen Körnern. In Schnitten gemessen, betragen sie 25—60 μ . Bei einfacher Besichtigung des Eiters kann man sie auf den ersten Blick leicht für *Actinomyces*-Kolonien halten, aber bei näherer Untersuchung in gefärbten Präparaten, namentlich in Schnitten, können wir keine der den *Actinomyces*-Pilz charakterisierenden Eigenschaften finden. Um nur die wichtigeren Unterschiede zu erwähnen, so zeigen sie z. B. die radiäre Anordnung nicht, es fehlen an den Enden der Fäden die hyalinen, acidophilen, keulenförmigen Gebilde. Auch die Fäden sind zu einer echten Verzweigung nicht fähig. Für die Verschiedenheit von *Actinomyces* spricht auch der Umstand, daß sie sich nicht immer in Form von Körnern entwickeln, ferner sind jene pathologischen Zustände von der Aktinomykose grundverschieden, bei welchen wir im Laufe unserer Versuche die fraglichen Fadenbakterien nachgewiesen haben.

Schon damit, daß wir die Bacillenformen immer in einer Gruppe mit den Fadenbakterien behandelten, wollten wir zum Ausdruck bringen, daß wir sie für zusammengehörend halten, und aus ihrer Charakteristik geht — so meinen wir — zur Genüge hervor, daß diese Mikroben den Trichomyceten angehören. Ueber ihre Einteilung gewährt uns Petruschky in seinem im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen erschienenen zusammenfassenden Berichte einen Ueberblick, aus dem wir nur die zur Bestimmung notwendige Unterscheidungsmerkmale hervorheben. Von den 4 Species haben wir die auf den *Actinomyces* bezüglichen Unterschiede zwar schon erwähnt. Von *Streptothrix*, wofür die echte Verzweigung und die Bildung von Konidienketten charakteristisch ist, können wir, da diese fehlen, absehen. Ebenso auch von *Leptothrix*, die niemals weder echte noch falsche Verzweigung zeigen, niemals einen welligen Verlauf aufweisen, sondern vielmehr starre, kaum ein wenig gebogene Fäden, in welchen man Teilungsprozesse (Zerfall zu Bacillen) nicht finden kann. Wenn wir nun die Haupteigenschaften der von uns untersuchten Fadenbakterien wie die scheinbaren Verzweigungen im menschlichen Material, die im allgemeinen in verschiedener Richtung gekrümmten Fäden, die sehr starke Bacillenbildung sowie die ausgeprägte Fragmentation der Fäden — ihren Zerfall zu Bacillen — betrachten, so sind das lauter Eigenschaften, die eben für *Cladothrix* charakteristisch sind. Demnach glauben wir ohne jeden weiteren Beweis die Ansicht aussprechen zu können, daß das besprochene Fadenbakterium einer *Cladothrix*-Art angehört. [Wir wollen aber noch eine Mikrobenart erwähnen, deren Ähnlichkeit auch wir nicht leugnen können und auf welche die Berichte ähnlichen Inhaltes von Beitzke und Eichmeyer die Aufmerksamkeit lenkten.

Das ist der von Jensen ebenfalls im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen ausführlich besprochene „Nekrosebacillus“. Uns aber eingehender mit ihm zu beschäftigen, ist überflüssig, denn abgesehen von den bedeutungslosen Laboratoriums-Infektionen (Schmorl und sein Diener bekamen kleine Abscesse), hat man ihn beim Menschen mit Sicherheit noch nicht finden können. Namentlich aber beschäftigen wir uns deshalb nicht damit, da für dieses Bakterium eben nicht die Bacillenform charakteristisch ist, sondern die Fadenbildung, ja nach Ernst kann sogar eine Verzweigung an demselben wahrgenommen werden. So können wir seine Zugehörigkeit zu den Bacillen mit Recht bezweifeln, und gerade auch gestützt auf Jensens Ansicht — „der Nekrosebacillus gehört sicherlich unter die Fadenbakterien“ — scheint er fast sicher zu einer für Tiere pathogenen Art der Trichomyceten zu gehören.]

Beim Menschen hat man schon öfter bei Eiterungen *Cladothrix* gefunden, so Eppinger, Rosenbach, Garten etc. Da sich diese aber auf spezielle Krankheiten beziehen, ist es überflüssig, uns mit ihnen noch eingehender zu beschäftigen. Uns interessieren besonders jene Fadenbakterien, die man in Gesellschaft mit dem *B. fusiformis* und der *Spirochäte* gefunden hat. Abgesehen von jenen Fällen, wo man bald die einen, bald die anderen Mikroben allein gefunden hat, werden bei Beschreibung der Gingivitiden, Stomatitiden, der jauchigen Anginen auch die von *B. fusiformis* abweichenden Bacillen und Fäden verschiedener Gestalt erwähnt. Ja sogar auch bei der reinen Plautschen Angina erwähnen jene Autoren, die sich mit Züchtungsversuchen befaßt haben — wenn sie sie auch nicht in Deckglaspräparaten beschreiben — so doch in den Kulturen immer die Fadenbakterien, worauf zu verweisen wir schon im III. Abschnitt Gelegenheit hatten. Bei stinkendem Zerfall, namentlich bei gangränösen Prozessen, findet man immer ausnahmslos außer den Fusiformen und den Spirochäten auch Fäden, die mit unseren vollkommen übereinstimmen, und zwar nicht nur im ausgestrichenen Material, sondern auch in Schnitten und eventuell auch in Kulturen. Wir können uns auf die Untersuchungen von Silberschmidt, Eichmeyer, Seiffert, Perthes berufen, die sie für eine *Cladothrix*-Art halten. Ebensolche Gebilde sahen in Schnitten Braun, v. Ranke, Feldmann; Buday beschreibt sie bei gangränösen Entzündungen der Mund- und Rachenhöhle als leptothrixartig; viele nennen sie „Nomafäden“. Jedenfalls ist es auffallend, daß die verschiedenen Autoren bei ichorösen Eiterungen, bei putridem Gewebszerfall, bei gangränösen Prozessen dieselben Eigenschaften besitzende Fadenbakterien finden, und zwar in der Mehrheit der Fälle in Gesellschaft mit Fusiformen und Spirochäten, die auch wir an experimentell hervorgerufenen, ganz ähnlichen Veränderungen, von einem menschlichen Fall ausgehend, studieren konnten. Diese Umstände zusammenfassend, gewinnen wir entschieden den Eindruck, daß in all diesen Fällen ein und dasselbe Fadenbakterium eine Rolle spielt. Es bestärkt uns noch in unserer Meinung außer der Uebereinstimmung in Gestalt und Züchtungsverhältnissen, daß sie bei, wenn auch klinisch und anatomisch abweichenden, im ganzen doch ähnlichen pathologischen Prozessen immer in der Gesellschaft ein und derselben Mikroorganismen vorkommen. Damit wollen wir natürlich die Möglichkeit nicht ausschließen, daß sie gegebenenfalls auch allein einen pathologischen Zustand, vielleicht eine stinkende Eiterung, hervorrufen können. Wir halten also diese *Cladothrix*art nicht nur für einen Vertreter der Mikroben

der Mundhöhle, sondern für eine sehr wichtige Form der Bakterienflora beider schon öfter erwähnten Krankheiten.

Was für eine Rolle die *Cladothrix* bei den in Frage stehenden Erkrankungen spielt, können wir zwar nicht sicher entscheiden, doch sind wir, in Anbetracht dessen, daß wir sie immer bei Prozessen, die mit Verbreitung üblen Geruches einhergehen, finden, geneigt — auf unsere Beobachtungen und die anderen gestützt — den putriden Gewebszerfall sowie auch die stinkende Zersetzung des geronnenen Eiweißes bei Exsudaten vornehmlich der Einwirkung dieser *Cladothrix* zuzuschreiben. Wir schreiben also diesem Mikroorganismus in gewisser Beziehung eine spezifische Rolle zu, was wir auch durch den Namen „*Cladothrix putredogenes*“ zum Ausdruck bringen wollen.

Wir müßten uns zwar auch mit der pathogenen Wirkung dieser drei Mikroben beschäftigen, doch kann das viel besser in dem nächsten Abschnitte, nämlich bei der bakteriologisch-histologischen Untersuchung des Versuchsmaterials, behandelt werden, wobei wir auch ihr Verhalten den Geweben gegenüber beschreiben. Hier wollen wir lieber die vollkommene Selbständigkeit dieser Mikroorganismen kurz begründen, was wir schon deshalb nicht übergehen können, da wir sehr große Irrtümer, die sich auch noch in neuester Zeit bemerkbar machen, beseitigen müssen. Während nämlich jene Forscher, die sich mit den Anginaarten beschäftigen, die Fusiformen und Spirochäten für selbständig halten, bezeichnet sie Perthes sowohl in seiner Beschreibung, als auch in Zeichnungen als auseinander entwickelte, also ganz identische Bakterien. Auf diesen Irrtum lenkt schon Buday die Aufmerksamkeit und beweist auch auf Grund seiner histologischen Untersuchungen die Unhaltbarkeit. Aber denselben Fehler begeht auch Silberschmidt, der der Ansicht ist, der *B. fusiformis*, die Spirochäte und das Fadenbakterium seien gleicher Abstammung und nur verschiedene Entwicklungsformen. R. Tuncliff behauptet dagegen noch in der neuesten Zeit — in diesem Jahre — daß die fusiformen Bacillen und die Spirochäten nur verschiedene Formen desselben Mikroorganismus seien. Noch öfter besteht eine gewisse Verwirrung zwischen dem *Fusiformis* und den Fragmentationen und auch den Fäden der *Cladothrix*. Vielleicht beschäftigen sie sich gerade deshalb nicht eingehender mit diesen Fadenbakterien, sondern erwähnen sie bloß, weil sie gar nicht daran gedacht haben, sie könnten etwas anderes sein, als fusiforme Bacillen (z. B. bei Silberschmidt: „Viele längere, bis zu ganz langen Fäden von 40—70, 150 μ Länge, dünn, meist schwach gefärbt, nach Gram entfärbt, gebogen und gewunden . . . etc. Die Enden erscheinen zugespitzt.“ Er charakterisiert in Bouillonkulturen folgendermaßen: „Die zusammenhängenden Kolonien bestanden aus solchen Fäden bis einige Hundert μ lang, verfilzt, schlecht färbbar, häufig zugespitzt an den Enden . . .“ Bei Eichmeyer: „Sehr zarte lange, ebenfalls bipolar zugespitzte Gebilde von 12—20 μ ; die bis zu langen Fäden 50—100—150 μ anwachsen können. Diese langen Fadenformen kommen im Abstrich relativ selten vor; finden sich dagegen in Bouillonkulturen (!) . . . ziemlich häufig.“ In Kulturen: „längere, zu den Enden gespitzte Fäden von gleichmäßiger Färbung und der gleichen Breite in ihren einzelnen Abschnitten“). Schon aus diesen wenigen Beispielen geht — unserer Ansicht nach — zur Genüge hervor, daß man aus diesen Beschreibungen

den *B. fusiformis* nicht erkennen kann, denn das „die Enden erschienen zugespitzt“ drückt noch nicht in unzweifelhafter Art die charakteristische spindelförmige Gestalt aus, da auch von einigen Hundert μ langen Fäden die Rede ist. Auf die häufige Verwechselung mit den Fadenbakterien haben wir schon bei der einheitlichen Charakteristik der Fusiformen hingewiesen, so daß es überflüssig ist, uns mit dieser Frage näher zu befassen. Aber zum Beweise der Selbständigkeit dieser drei Mikroorganismen können wir eine Erfahrung anführen, die wir aus unseren Kulturversuchen gewonnen haben. Wir sahen nämlich des öfteren, daß die Spirochäten in Knäueln gediehen (Abbildung 27), in denen weder fusiforme Bacillen noch Fäden zu sehen waren, ferner, daß die Entwicklung der Spirochäten gewöhnlich nur spät, nach 3—7 Tagen, begann; daß wir solche Kulturen besaßen, in denen nur fusiforme Bacillen waren, sowie daß in manchen die Cladothrix fehlte. All dies spricht für die Selbständigkeit der Mikroben. Wir können auch noch besonders hervorheben, daß wir weder in menschlichem Material noch im Laufe unserer Versuche Uebergangsformen gefunden haben. Auch haben wir außer dem sehr verschiedenartigen, einfachen Verkleben niemals Gelegenheit gehabt, einen solchen Zusammenhang zwischen den einzelnen Mikroben zu bemerken, der auch nur im geringsten darauf hingewiesen hätte, daß sich eine Form aus der anderen entwickelt hätte. Schon dadurch, daß wir die drei Mikroben getrennt charakterisiert und bezeichnet haben, haben wir auch zum Ausdruck gebracht, daß wir sie nicht für eines Ursprunges halten. Zur Bestätigung der ähnlichen Meinung Budays berufen wir uns außer unseren Untersuchungen auf die neueren Erfahrungen, daß sowohl der *B. fusiformis* wie die Spirochäte voneinander getrennt oder bar von Fadenbakterien in Kulturen gefunden werden können (Lewkowitz, Mühlens). Demnach können wir also behaupten, daß der *B. fusiformis*, die *Spirochaete gracilis* und die *Cladothrix putredogenes* voneinander ganz verschiedene Mikroorganismen sind.

IV.

Beiträge zur Histogenese der gangränösen Entzündungen.

Die Beschreibung der histologischen Untersuchungen des von unseren Versuchstieren stammenden Materiales hätte wohl in den betreffenden Abschnitten Platz gefunden, aber das Ergebnis der Untersuchungen verdient es, daß wir der Würdigung des bakteriologisch-histologischen Befundes einen besonderen Abschnitt widmen. Wir hielten es für begründet, weil im Obigen die eingehende Schilderung der Deckglaspräparate neben der Beschreibung des anatomischen Bildes und der Kulturen vom streng bakteriologischen Standpunkte aus genügend schien, auf der anderen Seite aber auch deshalb, weil die histologischen Untersuchungen unsere Aufmerksamkeit auf solche Dinge lenkten, die nicht so sehr wegen der beteiligten Bakterien, als vielmehr mit Bezug auf die Histogenese der durch sie verursachten Prozesse — namentlich der von gangränösem Charakter — von Wichtigkeit sind. Das Studium der einzelnen Gangränformen in dieser Richtung war bis zum heutigen Tag nur an menschlichem Material möglich. Es ist also nur natürlich, daß wir, sobald uns der mit dem vorigen übereinstimmende histologische Befund der mit Kulturen infizierten Versuchstiere zur Verfügung stand, nicht nur zu bestätigenden Beweisen gelangten, sondern zugleich auch über die pathogene Wirkung der beteiligten Mikroben und deren ätio-

logischen Einfluß bei den in Frage stehenden Prozessen eine wertvolle Aufklärung erhielten.

Wie wir in dem die Tierversuche zusammenfassenden Abschnitte gezeigt haben, konnte man im Krankheitsverlauf 3 Typen unterscheiden. Die histologische Untersuchung der rein eitrigen Abscesse weist kaum einen Unterschied von dem Befunde der in unserem Falle gefundenen Abscesse auf. Es ist nämlich eine ganze Menge meistens zerfallender Eiterzellen von verhältnismäßig normalem Muskelgewebe begrenzt. Nur die die Absceßwand bildende Schicht erweist sich als eine von weißen Blutzellen infiltrierte nekrotische Zone. Im Eiter selbst kann man eine ganze Menge von *Cladothrix putredogenes* sehen (Abb. 25), welche die verschieden großen Körnchen aufbauen, während zerstreut zwischen den Eiterzellen außer Kokken fusiforme Bacillen, *Spirochaete gracilis*, sowie die Bacillenformen der *Cladothrix* in verschiedener Anzahl gefunden werden können. Einen wesentlichen Unterschied von den Abscessen des Menschen zeigt nur die Struktur der Körner, indem sie bei Tieren nur aus Fadenbakterien bestehen, Fusiformen aber nirgends in größerer Menge in ihrer Gesellschaft sind; jenes Bild, das Fig. 16 bei schwacher Vergrößerung zeigt, haben wir in tierischen Abscessen nie gesehen.

In den Fällen von rapid verlaufenden ichorösen Phlegmonen haben wir eine Eiterung höheren Grades auch in Schnitten nicht gefunden, sondern das intermuskuläre lockere Bindegewebe ging zu Grunde und an seiner Stelle konnte man in mehr oder weniger breiten Schichten geronnenes Exsudat sehen, das in so großen Mengen Kokken, Bacillenformen, Spirochäten und in viel kleinerer Anzahl Fäden enthält, als ob es eine zusammengemischte Kultur der Bakterien wäre. In Schnitten, die von solchen Fällen gemacht wurden, tritt die Menge der Kokken in den Vordergrund, die teils gleichmäßig, aber dicht verteilt, teils in Gruppen gehäuft zu sehen sind. In Deckglaspräparaten, die aus dem mit Wasser verdünnten ichorösen Exsudat hergestellt worden waren, sah man die Vermehrung der Kokken nicht so ausgeprägt. Ein wichtiger Befund ist die große Menge der Kokken deshalb, weil wir meinen, daß gerade darin die Erklärung des phlegmonösen Charakters der Krankheit liegt, die der auch beim Menschen wahrnehmbaren Phlegmone sehr ähnlich ist. Den stinkenden eitrigen Charakter können die anderen Bakterien bedingen, namentlich das gleichzeitige Vorkommen der Fusiformen, der Spirochäten und *Cladothrix*. Auch den raschen Verlauf müssen wir den Kokken zuschreiben, das beobachtete Krankheitsbild einer schweren Intoxikation aber den sicherlich in großer Menge produzierten toxischen Substanzen. Es ist charakteristisch, daß wir eben bei diesen Kaninchen auch hohes Fieber bemerkten.

Viel wichtiger als der histologische Befund dieser zwei eben jetzt beschriebenen Typen ist das mikroskopische Bild der gangränösen Abscesse. Auf der Schnittfläche der gangränös zerfallenden Weichteile kann man schon mit freiem Auge eine gewisse Schichtung wahrnehmen. Die äußerste Schicht besteht aus schmutzigenbraunen oder schwärzlichen, bröckeligen und zerreißen Gewebsfetzen, unter ihr kann eine festere, fahlgraue Schicht gesehen werden, die vom gesunden Muskelgewebe durch eine feine, etwas durchscheinende, ins gelbliche spielende Zone getrennt wird. Die mittlere, fahlgraue und an die Koagulationsnekrose erinnernde Schicht kann zuweilen auch ziemlich breit sein. In gefärbten Schnitten (mit verdünntem Karbolfuchsin, Gram, Weigert, Levaditi)

sind die stinkenden Fetzen voll von allen Bakterienarten, jedoch ohne jede regelmäßige Anordnung, und es sind besonders viele Kokken. In der mittleren Schicht sind die Kokken schon auffallend selten zu finden, dagegen massenhaft *Cladothrix*-Bacillen und -Fäden, zugleich können Spirochäten in großer Menge und auch Fusiformen gesehen werden. In einigen Präparaten haben wir zwar an der Grenze des sich noch färbenden Gewebes die fusiformen Bacillen in verhältnismäßig größerer Anzahl gefunden als die *Cladothrix*, doch war dies beim Versuchsmaterial nicht die Regel, da in den meisten Fällen die *Cladothrix* zahlreicher zu sein schien, als die Fusiformen. Nach innen zu nehmen diese Mikroben immer mehr ab und die Spirochäten bleiben in vorherrschender Anzahl, indem sie weit zwischen die Muskelfibrillen hineindringen, so daß sie einzelne Muskelfasern ganz überfluten. Ueberaschend schön zeigen dieses die nach Levaditi verfertigten Präparate, in denen die zarten, feinen, schwarzen Spirochäten sich von dem blaßgelben Grunde sehr deutlich abheben (Fig. 30, 31). Sie überfluten die Muskelfasern meistens parallel mit den Fibrillen, besonders in den verhältnismäßig noch gesunden Muskeln. In den mehr oben gelegenen, gequollenen, zerfallenden Muskelschichten dagegen liegen sie unregelmäßig durcheinander. Solchen nekrotischen Muskeln lagern sich auch *Cladothrix* auf, denn es sind nicht nur die Randpartien mit Bacillen und Fäden bedeckt, sondern einzelne Fäden dringen auch schon in die Muskelsubstanz selbst ein. Lange Zeit hindurch haben wir dieses topographische Lageverhältnis der *Spirochaete gracilis* bei der experimentellen Gangrän nicht wahrgenommen, obgleich unsere Aufmerksamkeit durch Budays Untersuchungen schon darauf hingelenkt worden war. Auch glaubten wir das reiche Versuchsmaterial vom Gesichtspunkte der Gangränentwicklung im Sinne der Theorie Budays gar nicht gebrauchen zu können. Wir besaßen nämlich anfangs nur mit Fuchsin gefärbte Präparate, in denen sich auch die nekrotischen Muskeln so dunkel färbten, daß es uns nicht möglich war, die blaß gefärbte und außerordentlich zarte, dünne *Spirochaete gracilis* zu sehen. Trotzdem diese Methode in gewisser Beziehung launenhaft und unbeständig ist, müssen wir doch die Levaditische Methode als die eben für den Nachweis der Spirochäten vorläufig geeignetste hervorheben. Die objektive histologische Untersuchung beweist also, daß bei der experimentellen Gangrän die *Spirochaete gracilis*, ohne von irgend einem anderen Bakterium begleitet zu sein, in die noch färbbaren, also verhältnismäßig noch gesunden Gewebe in großer Menge eindringt. Diese Tatsache allein erhöht schon die Bedeutung der *Spirochaete gracilis* in hohem Maße, sowohl was ihre pathogene Wirkung betrifft, als auch die Aetiologie einiger Arten der gangränösen Prozesse.

Seitdem die Untersuchungen Vincents beim Spitalbrand, die von Perthes und Seiffert beim Noma, die Matzenauers und Rónas bei ähnlichen Erkrankungen der äußeren Genitalien auch die gangränösen Prozesse im Gegensatz zu den alten Theorien mit Bestimmtheit unter die Bakterieninfektionen reichten, beschäftigte die Autoren namentlich die Frage, welcher von den immer in Mehrzahl gefundenen Mikroben in ätiologischer Hinsicht der wichtigste sei und welcher die dem gangränösen Zerfall vorausgehende Gewebse nekrose verursache. Es ist wohl ganz überflüssig, uns mit den diesbezüglichen Theorien eingehender zu

beschäftigen, da hauptsächlich immer andere Bakterien, so die Fusiformen, die „Nomabacillen“, „Nomafäden“ (offenbar unsere *Cladothrix*) in Betracht kommen, bloß der Spirochäte schrieb man keine Wichtigkeit zu, ausgenommen Buday und mit ihm gleichzeitig Ellermann. Jedermann war der Ansicht, die Spirochäten seien gerade nur zufolge der Symbiose mit dem *B. fusiformis* bei den in Frage stehenden Krankheiten vorhanden und ihre Anwesenheit erklärte man so, daß sie in dem zerfallenden nekrotischen Gewebe auf einen besonders günstigen Nährboden gelangt seien, um sich darin als „Saprophyten“ zu vermehren. Sie könnten zwar in den meisten Fällen als „Schmarotzer“ gleichzeitig mit den Fusiformen gefunden werden, ohne jedoch bei der Entstehung des Prozesses durch diese Symbiose einen wichtigen Einfluß zu besitzen. Diese irrige Ansicht korrigieren auch die zusammenfassenden Arbeiten nicht (Babes, Eichmeyer), trotzdem aus Budays und Ellermanns Untersuchungen schon lange vorher die eigentümliche Lokalisation der Spirochäten bekannt war. Buday sagt auf Grund seiner öfter angeführten Untersuchungen: „Bei gangränösen Mund- und Rachenentzündungen, die sich auch in der Tiefe der Gewebe nach allen Richtungen hin verbreiten, bildet das massenhafte Eindringen der „Spirillen“ in die normalen Gewebe das erste Stadium der Gewebsnekrose.“ Ähnlich hebt auch Ellermann die Wichtigkeit und Selbständigkeit der Spirochäten bei der beginnenden Gewebsnekrose im Gegensatz zu den fusiformen Bacillen hervor. In jeder Hinsicht bestätigt dieses Feldmann in seinen in neuester Zeit veröffentlichten Untersuchungen, die sich auf den bakteriologischen Befund beziehen, den er teils bei jauchigen Eiterungen, teils bei in Gangrän übergehenden Nekrosen beobachtet hat¹⁾.

Indem wir uns auf den Erfolg oben zusammengefaßten bakteriologisch-histologischen Untersuchungen berufen, können wir es als eine durch Experimente bewiesene Tatsache ansehen, daß die *Spirochaete gracilis* bei verschiedenen — offenbar spezifischen — Gangränarten in großer Anzahl in die verhältnismäßig noch gesunden Gewebe eindringt und in ihnen solche Veränderungen verursacht, die zur Nekrose führen. Hierdurch bereiten sie zugleich die Gewebe vor zu einem schwereren, von den Fusiformen, der *Cladothrix* und von Kokken herbeigeführten Zerfall. Den ganzen Verlauf stellen wir uns so vor, daß in den von den Spirochäten überfluteten Teilen die hingelangenden Bakterien, Fusiformbacillen oder die von ihnen produzierten Gifte die Nekrose der Gewebe vervollständigen. Den stinkenden Zerfall der nekrotischen Teile dagegen verursacht die *Cladothrix putredogenes*, vielleicht mit anderen zufällig vorhandenen Mikroben, meistens zusammen mit Kokken. In solchen Fällen besitzen also die Spirochäten nicht bloß den Charakter von Saprophyten, sondern spielen auch eine wichtige ätiologische Rolle.

Im III. Abschnitt unserer Arbeit versuchten wir jene Möglichkeiten einigermaßen zu beleuchten, wonach bei Tieren, die mit menschlichem oder aus Kulturen stammendem Material infiziert wurden, die entstehende Krankheit in drei Formen auftreten kann. Das dort Gesagte müssen wir hier noch vervollständigen, indem wir auch den histologischen Be-

1) Durch die freundliche Mitteilung Prof. Budays besitzen wir Kenntnis davon, daß nach Erscheinen seiner Arbeit seine Ansicht von Vincent und Róna bestätigt worden ist.

fund beachten. Diesbezüglich ist es auffallend, daß bei den sich hinziehenden, rein eitrigen Fällen namentlich die *Cladothrix*, bei den rasch verlaufenden jauchigen Phlegmonen die Kokken im Verhältnis zu den anderen in auffälliger Menge vorhanden waren, aber immer nur im Exsudate, ohne schwerere Alterierung der Gewebe. Im Gegensatz dazu gewährten die gangränösen Fälle trotz des bakteriologischen Befundes ein wesentlich abweichendes Bild, für das die oben erwähnte, fast gesetzmäßige Verteilung der einzelnen Bakterienarten charakteristisch ist. Warum in den vorigen Fällen ein Krankheitsprozeß mit verhältnismäßig nur einfacherem Exsudat, in diesen dagegen ein tiefgreifender, entschieden komplizierterer, nekrobiotischer Prozeß von progressivem Charakter entstand, trotzdem die Bakterien die nämlichen waren, dafür bildet die Menge der Bakterien keine genügende Erklärung. Wahrscheinlich müssen mehrere Ursachen beachtet werden, so die Virulenz der Mikroorganismen, die Reaktion der Organismen sowie die Widerstandsfähigkeit der Gewebe gegen die eindringenden Mikroben.

Wenn nämlich die Virulenz der Bakterien geringeren Grades, der gesunde, durch Krankheiten nicht geschwächte Organismus einer Reaktion fähig, die Widerstandsfähigkeit der Gewebe genügend kräftig ist, dann wird nur ein Prozeß mit einfacherem Exsudate die Folge des von allen oder von einem einzelnen Bakterium verursachten Reizes sein, und zwar nur mit einer leichteren pathologischen Veränderung der angegriffenen Gewebe. So z. B. an verschlossenen Stellen Absceßbildung, speziell auf Schleimhäuten pseudomembranöser Belag oder in schwereren Fällen eine ulceröse Entzündung. Als solche können wir die ähnlichen Arten der Gingivitis und Stomatitis betrachten, bei denen, wie die Untersuchungen zeigen, die Fusiformen im Übergewicht sind. Ebenfalls für hierher gehörig halten wir auch die einen ähnlichen bakteriologischen Befund aufweisenden Anginen, die man übrigens auch für atypisch gelegene Stomatitis halten kann (Eichmeyer). Auch bei diesen sind in ätiologischer Beziehung — darin stimmen alle überein — die Fusiformen die wichtigsten. Die Spirochäten aber dringen nicht in die Gewebe ein, vermehren sich nicht in größerem Maße und besitzen eine so schwache Virulenz oder sind ganz avirulent, so daß ihnen nur eine untergeordnete Rolle zukommt. Sie haben in solchen Fällen tatsächlich nur die Bedeutung der Saprophyten. Die Wahrscheinlichkeit dieser Ansicht wird noch verstärkt durch die Verschiedenheit der Spirochäten in der Gestalt, worauf wir gelegentlich ihrer Bestimmung in ähnlichem Sinne hingewiesen haben.

Wenn dagegen infolge irgend einer Ursache vorausgegangene Krankheiten, bei unseren Versuchen langwierige Eiterung, die Lebenskraft der Gewebe vermindert haben, also ihre Widerstandsfähigkeit geschwächt ist, so gelangen die dort lebenden Mikroorganismen, darunter eben auch die *Spirochaete gracilis*, in günstige Verhältnisse, vermehren sich stark, ihre Virulenz nimmt zu, und damit ändert sich auch der weitere Verlauf der Krankheit wesentlich. Der Prozeß gewinnt einen progressiven Charakter durch das Vordringen der *Spirochaete gracilis* in die für sie schon vorbereiteten Gewebe. Sie wird unterstützt von den Fusiformen, während unter der Einwirkung der *Cladothrix* und eventuell auch anderer Bakterien der für Gangrän charakteristische stinkende Zerfall der angegriffenen Gewebe erfolgt.

Natürlich können die zwei soeben im allgemeinen gezeichneten Typen in mehr als einer Hinsicht Abweichungen aufweisen, je nachdem sich

die teils durch die angegriffenen Gewebe, teils durch die feindlichen Mikroorganismen bedingten verwickelten Verhältnisse ändern.

Wie es auch immer um die Richtigkeit der oben beschriebenen, auf die Forschungsergebnisse Anderer und auf eigene Erfahrung basierten Theorie über die Pathogenese der Gangrän stehen möge, so ist es doch Tatsache, daß es „gangränöse Entzündungen“ gibt, die sowohl in Bezug auf den bakteriologischen Befund als auch bezüglich der histologischen Veränderungen immer das nämliche Bild zeigen. Das sind jene Gangränformen, bei denen die *Spirochaete gracilis*, *B. fusiformis* und *Cladothrix putredogenes* niemals fehlen. Außer diesen drei Mikroben können in dem gangränös zerfallenden Gewebe auch andere Bakterienarten vorkommen. In erster Linie verschiedene Kokken, dann alle möglichen anderen Bakterien, die entweder auch sonst beständige Parasiten der erkrankten Stelle sind, oder sekundär hingelangt sind, wie z. B. Diphtherie-, Pseudodiphtheriebacillen, Coli- und *Proteus*-Arten, Spirillen (nämlich Vibrionen, Komma-bakterien), Fäulnisbakterien u. s. w. Aber diese spielen immer nur eine untergeordnete Rolle neben den oben erwähnten, die mit der Krankheit entschieden in ätiologischer Beziehung stehen.

Wir würden es also für ganz begründet halten, diese Form der Gangrän, die einen einheitlichen bakteriologischen und pathologischen Prozeß vorstellt, von den ihr anatomisch mehr oder weniger ähnlichen anderen Krankheitsbildern vollständig zu trennen.

Anmerkung bei der Korrektur.

In Bezug auf die Kultivierung der Spirochäten müssen wir die vor kurzem in der Zeitschr. f. Hygiene u. Infektionskrankh. Bd. LV erschienene Publikation von Mühlens erwähnen, auf die wir in dieser Arbeit des Näheren leider nicht mehr eingehen konnten, und in welcher Mühlens über anaerobe Reinzüchtung der *Spirochaeta dentium* berichtet. Mühlens ist zur Zeit der einzige Autor, dem dies gelang. — Eine andere, auf die Spirochäten sich beziehende Arbeit ist die von Loewenthal (Berl. klin. Wochenschr. 1906). L. fand auf der Oberfläche von exulcerierten Geschwülsten in großer Zahl Spirochäten, welche den in dem Stuhl gefundenen sehr glichen, und welche er mit dem Namen *Spirochaeta microgyrata* benennt.

Literatur.

- Abel, Zur Bakteriologie der Stomatitis und Angina ulcerosa. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIV. 1898.)
 Babes, Spindelförmige Bacillen. (Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Ergänzt.-Bd. I. 1906.)
 Beitzke, Ueber die fusiformen Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXV. 1904.)
 Bernheim, Ueber einen bakteriologischen Befund bei Stomatitis ulcerosa. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIII. 1898.)
 Buday, Zur Pathogenese der gangränösen Mund- und Rachenentzündungen. (Zieglers Beiträge. Bd. XXXVIII. 1905.)
 Donogány, A Vincent-féle Angináról. (Bpesti Orv. Ujság. Gégészet 1. 1906.)
 Eichmeyer, Ueber Angina ulcero-membranacea u. s. w. (Lubarsch-Ostertag, Ergebn. d. allgem. Pathologie etc. Jahrg. X. 1904–1905.)
 Ellermann, Ueber die Kultur der fusiformen Bacillen. [Vorläuf. Mitteil.] (Centralbl. für Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904.)

- Ellermann, Einige Fälle von bakterieller Nekrose beim Menschen. (Ebenda. Bd. XXXVIII. 1904.)
- Eppinger, Ueber eine neue Cladothrix u. s. w. (Zieglers Beiträge. Bd. IX.)
- Feldmann, Adatok a bac. fusiformis s spirillum dentium nak tulajdonitható betegségekhez. (Gyógyászat. 1906.)
- Hoffmann u. Prowazek, Untersuchungen über die Balanitis und Mundspirochäten. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)
- Lewkowicz, Ueber die Reinkulturen des fusiformen Bacillus. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)
- van Loghem, Zur Kasuistik der Streptothrix-Pyämie. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XL. 1906.)
- Máthé, Klinikai észlelések a fusospirillaris megbetegedésekről u. s. w. (Purjesz Emlékkönyv. 1906.)
- Miller, Die Mikroorganismen der Mundhöhle. Leipzig 1892.
- , Ueber eine scheinbar pathogene Wirkung der Sp. dentium. (Dtsch. med. Wochenschrift. 1906. No. 9.)
- Mühlens, Ueber Züchtung von Zahnspirochäten und fusiforme Bacillen u. s. w. (Dtsch. med. Wochenschr. 1906. No. 20.)
- Nielot u. Marotte, L'angine et la stomatite à bac. fusif. de Vincent et à spirilles. (Revue de méd. 1901. Ref. bei Eichmeyer.)
- Petrushky, Die pathogenen Trichomyceten. (Handb. d. pathog. Mikroorg. Liefg. 9—10. 1903.)
- Rist, Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchungen u. s. w. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd XXX. 1901.)
- Schaudinn, Zur Kenntnis der Sp. pallida. [Vorläuf. Mitteilung.] (Deutsche med. Wochenschr. 1905.)
- Silberschmidt, Ueber den Befund von spießförmigen Bacillen (Bac. fusiforme Vincent) und von Spirillen in einem Oberschenkelabsceß beim Menschen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXIX. 1901.)
- Tunicliff, The identity of fusif. bacilli and spirilla. (The Journ. of inf. dis. Vol. III. 1906. Ref. Centralbl. f. allg. Pathol. Bd. XVII. No. 13.)
- Uffenheimer, Beiträge zur Klinik und Bakteriologie der Angina u. s. w. (Münch. med. Wochenschr. 1904.)
- Veszprémi, Kultur- und Tierversuche mit dem B. fusiformis und dem Spirillum. [Vorläuf. Mitteil.] (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905.)
- Zettnow, Geißeln bei Hühner- und Rekurrenasspirochäten. (Deutsche med. Wochenschrift. 1906.)

Tafelerklärung.

- 1) B. fusiformis in Haufen, aus den Körnchen meningitischen Eiters.
- 2) B. fusiformis in Ketten aus den Körnchen meningitischen Eiters.
- 3) Involutionsformen des B. fusiformis.
- 4) Aus einem menschlichen Lungenabsceß. a) Cladothrix; b) B. fusiformis.
- 5) Aus einem menschlichen Lungenabsceß. Verschiedene Form der Cladothrix.
- 6) Aus einem menschlichen Lungenabsceß. Bacillenfragmentationen der Cladothrix.
- 7) Aus einem menschlichen Lungenabsceß. a) Spirochäten; b) dickere, dunklere Spirochäten; c) B. fusiformis; d) Bacillenformen der Cladothrix.
- 8 u. 9) B. fusiformis mit Geißeln. Van Ermengensche Färbung. a) B. fusiformis; b) Spirochäten.
- 10) Cladothrix-Körnchen aus dem Lungenabsceß. (Schnitt.) — Aus Abbildung 16 a, mit Immersionsvergrößerung.
- 11) Haufen von fusiformen Bacillen aus dem Lungenabsceß. (Schnitt.) — Aus Abbildung 16 b, mit Immersionsvergrößerung.
- 12) B. fusiformis; Spirochäten; Cladothrix nach Gram gefärbt, unter Aufkochen der Farblösung.
- 13, 14 u. 15) Cladothrix nach Gram gefärbt. (Schnitt.)
- 16) Körnchenkonglomerat in Eiter. (Schnitt.) a) Cladothrix; b) Haufen von fusiformen Bacillen. (Schwache Vergrößerung.)
- 17) Aus dem Eiter des Kaninchenabscesses. a) Cladothrix; b) Spirochäten; c) fusiforme Bacillen.
- 18) Haufen von Spirochäten aus dem Kaninchenabsceß. a) Spirochäten; b) Bacillenformen der Cladothrix.
- 19) Aus dem Eiter des Kaninchenabscesses. a) fusiforme Bacillen; b) Spirochäten. c) Kokken.

- 20) Aus dem Eiter des Kaninchenabscesses. a) Cladothrix-Fäden; b) Spirochäten; c) *B. fusiformis*.
- 21) Aus dem Eiter des Kaninchenabscesses. Nach Gram gefärbt wie bei 12.
- 22) Involutionsformen von Cladothrix. Nach Weigert. Aus dem Kaninchenabsceß. (Schnitt.)
- 23) Involutionsformen von Fusiformen. Nach Weigert. Aus dem Kaninchenabsceß. (Schnitt.)
- 24) Spirochäten und Cladothrix aus dem Kaninchenabsceß. Nach Gram gefärbt wie bei 12.
- 25) Cladothrix-Körnchen aus dem Kaninchenabsceß. Nach Weigert. (Schnitt.)
- 26) Fusiformis-Haufen aus einer Kultur.
- 27) Spirochätenknäuel aus einer Kultur.
- 28) Deckglaspräparat aus einer 7 Tage alten Kultur. a) Cladothrix; b) Fusiformen; c) Spirochäten.
- 29) Involutionsformen von Cladothrix aus einer alten Kultur.
- 30) Gangränöse Absceßwand eines mit Kultur geimpften Kaninchens. (Schnitt.) Schicht von Spirochäten. Nach Levaditi. Homogene Immersion.
- 31) Gangränöse Absceßwand eines mit menschlichem Material infizierten Kaninchens. (Schnitt.) Nach Levaditi. Homogene Immersion.

Nachdruck verboten.

Beiträge zum regelmässigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und in den Tonsillen gesunder Schweine.

[Aus dem Königl. hygienischen Institut der Universität in Königsberg Pr.
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von **W. Pitt**, städtischem Tierarzt zu Königsberg Pr.

Die ersten Untersuchungen über die Aetiologie der Rotlaufseuche stellten Pasteur und Thuillier in den Jahren 1882 und 1883 an. Sie sowohl wie Cornevin bezeichneten jedoch nicht den Rotlaufbacillus als den Erreger der Seuche, sondern andere Mikroorganismen, nämlich kokkenartige Körner „granulations punctiformes“. Der erste, der den Rotlaufbacillus reinzüchtete, war Loeffler. Er ist somit der eigentliche Entdecker. Seiner Arbeit, die im Jahre 1885 entstand, folgten die von Schütz in den Jahren 1885—1886 und Lydtin und Schottelius 1885. Sie vervollkommneten in bedeutender Weise unsere Kenntnisse über das Wesen dieser Seuche.

Obwohl durch die Untersuchungen dieser Forscher festgestellt wurde, daß die Rotlaufbacillen ein saprophytisches Dasein führen und sich außerhalb des tierischen Körpers vermehren können, so blieb doch nach wie vor die Anschauung die maßgebende, daß die Seuche vorwiegend durch Ansteckung von Tier zu Tier verbreitet werde. Man beschuldigte besonders die Einstellung von an der Seuche erkrankten Schweinen in gesunde Bestände oder das Verfüttern von Fleisch- und sonstigen Abfällen von an Rotlauf erkrankten Schweinen.

Die enorme Verbreitung dieser Seuche in Preußen führte im Jahre 1894 dazu, sie für die östlichen Provinzen der Monarchie anzeigepflichtig zu machen. Da die Krankheit sich in erschreckender Weise immer weiter ausbreitete, so wurde durch Bekanntmachung des Reichskanzlers vom 8. September 1898 die Anzeigepflicht für Rotlauf für das ganze Deutsche Reich eingeführt.

Trotz strenger Sperrmaßregeln und Desinfektion der verseuchten

Stallungen gelang es nur scheinbar oder gar nicht, die Seuche einzudämmen, wie aus zahlreichen Publikationen beamteter Tierärzte ersichtlich ist. Ueber den Wert und Unwert der Sperrmaßregeln und der Desinfektion gingen und gehen bis heute die Ansichten der tierärztlichen Sachverständigen auseinander.

Daß die beiden soeben genannten Maßregeln, den Rotlauf zu bekämpfen, oft versagen müssen, beweisen uns die interessanten Veröffentlichungen aus den Jahres-Veterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens, durch die wir manche Aufschlüsse über Aetiologie, Verbreitung und plötzlichen Ausbruch der Rotlaufseuche erhalten.

So ist von zahlreichen Tierärzten die Beobachtung gemacht worden, daß solche Schweine, die in hygienisch einwandfreien, massiven Stallungen untergebracht wurden, weit davon entfernt, gegen die Rotlaufseuche besser geschützt zu sein, eine große Empfindlichkeit für die Krankheit zeigen. Ich führe in dieser Beziehung die interessanten Mitteilungen des Tierarztes Dr. Kantorowitz an. K. konnte nach Impfung einer Anzahl von Schweinen nach der Lorenzschen Methode eine Erkrankung und den Tod von 5 Schweinen an Rotlauf feststellen. Dieser ganze Schweinebestand war in einem hygienisch tadellosen Stall untergebracht. In einem anderen Stalle desselben Gehöftes, wo vor zwei Jahren die Rotlaufseuche heftig geherrscht hatte, blieben die Schweine sämtlich gesund, obwohl sie mit denselben Impfstoffen behandelt wurden.

Serum und Kultur waren von tadelloser Beschaffenheit; denn es wurden noch andere Schweinebestände ohne jeglichen Verlust immunisiert.

Derartige Beobachtungen legen uns nahe, in der verschiedenen Beschaffenheit der Stallungen eine Erklärung für dieses Verhalten zu suchen. Offenbar sind die Schweine in den zementierten, also undurchlässigen Ställen mit Sicherheit gegen eine Infektion von Rotlaufvirus aus dem Erdreich geschützt. Darauf ist aber ihre erhöhte Empfindlichkeit zurückzuführen, sobald auf andere natürliche Weise, z. B. durch Einstellen neuer Schweine oder künstlich bei Gelegenheit von Immunisierung Rotlaufbacillen in den Bestand gelangen.

Das in einem nach unseren bisherigen Anschauungen „weniger vollkommen“ eingerichteten Stall hausende Schwein nimmt offenbar aus der Erde zeitlebens geringe Mengen von Rotlaufstäbchen auf, die, ohne unbedingt eine Infektion auszulösen, im Organismus des Tieres haften können.

Auf diese Weise wird es gewissermaßen zum Bacillenzwischenträger, d. h. es beherbergt in seinem Organismus, ohne selbst krank zu werden, oder nachdem es eine Erkrankung leichtester Art durchgemacht hat, (Urticaria) Rotlaufbacillen. Es sind das Verhältnisse, wie sie in der menschlichen Pathologie uns in neuester Zeit bei Typhus, Cholera und ähnlichen Krankheiten bekannt geworden sind. Nun hat Friedberger nachgewiesen, daß speziell derartige Cholerabacillenzwischenträger, obwohl sie nie eine manifeste Krankheit durchgemacht haben, in ihrem Blutserum ein erhöhtes bakterizides Vermögen gegen Choleravibrionen, verglichen mit dem der normalen Menschen, zeigen. Wir dürfen ähnliche Verhältnisse auch bei den Bacillenträgern unter den Schweinen für Rotlauf annehmen. Dann haben wir eine Erklärung dafür, daß derartige Schweine unter dem Einfluß einer allmählich unter natürlichen Verhältnissen milden, aktiven Immunisierung eine höhere Widerstandskraft zeigen gegenüber einer zufälligen Berührung mit vollvirulenten Rotlaufbacillen, als jene Schweine, die in massiven Ställen möglichst von jeher

vor der Berührung mit diesen virulenten Infektionskeimen bewahrt bleiben.

Auch Preisz steht auf dem Standpunkt, es sei die Annahme nicht von der Hand zu weisen, daß sich ältere Schweine durch ein- oder mehrmalige Einverleibung des schwach virulenten Rotlaufbacillus eine gewisse Immunität erwerben, da die Erfahrung lehre, daß ältere Tiere (über ein Jahr) weniger empfänglich für die Rotlaufinfektion seien. Sollte diese erworbene, natürliche Immunität nicht die Tatsache genügend erklären, daß die einheimischen Schweine die plötzlich heftig auftretende Seuche viel besser überstehen als die in die Rotlaufdistrikte importierten Tiere?

Nun veröffentlichte Olt im Jahre 1901 eine Abhandlung „Ueber das regelmäßige Vorkommen der Rotlaufbacillen im Darne des Schweines“. Dieser Arbeit, die ein bedeutendes Interesse in Anspruch nahm, folgte bald in demselben Jahre eine über das ständige Vorkommen der Rotlaufbacillen in den Tonsillen des Schweines von Bauermeister.

Die Untersuchungen Olts und Bauermeisters erweiterten unsere Kenntnisse über die Aetiologie der Rotlaufseuche um ein bedeutendes.

Sie zwingen uns zu der logischen Schlußfolgerung, daß die Stätten, wo aus dem harmlosen Saprophyten plötzlich ein vollvirulenter Bacillus wird, nicht allein im Boden, sondern auch in den Tieren zu suchen sind, die diese Bakterien in ihrem Organismus beherbergen. Olt ist auf Grund seiner Beobachtungen nunmehr der Ansicht, daß es nicht mehr nötig sei anzunehmen, es seien bei Seuchenausbrüchen die Erreger der Rotlaufseuche vom Erdboden aufgenommen worden. Er will die Erkrankung der Schweine lediglich als eine von den im Darne anwesenden Rotlaufstäbchen eingeleitete Infektion aufgefaßt wissen. Seiner Ansicht schließt sich C. O. Jensen an, der in einer großen Reihe von Versuchen die Ergebnisse der Arbeiten Olts und Bauermeisters nachgeprüft und bestätigt hat.

Für ihn liegt kein zwingender Grund mehr vor zu der Annahme, daß die Rotlaufbacillen vom Erdboden stammen und von hier aufgenommen werden, da das ständige Vorkommen dieser Krankheitserreger im Darm und den Tonsillen unter normalen Verhältnissen die Epidemiologie dieser Seuche hinreichend erkläre.

Olt meint, daß tiefer gehende Verletzungen des Darmes die Infektion besonders begünstigen. Er fand bei der Untersuchung des Coecums und Colons sehr oft auf der Schleimhaut dieser Darmabschnitte Geschwüre, die durch die Einwanderung des *Strongylus follicularis* verursacht worden waren. Es gelang ihm nun, in den Pfröpfen dieser entozoischen Follikulargeschwüre fast immer Rotlaufbacillen nachzuweisen und zwar bei ganz gesunden Schweinen.

Nun ist es Heinick im Gegensatz zu Olt und Jensen nicht gelungen, im Darm gesunder Schweine Rotlaufbacillen nachzuweisen. Heinick, der im hygienischen Institut zu Posen über die Bakterienflora des Schweinedarmes genaue Untersuchungen angestellt hat, richtete, angeregt durch die Arbeiten Olts und Jensens, auch sein besonderes Augenmerk auf das Vorkommen der Rotlaufbacillen. Das Resultat war ein in jeder Hinsicht negatives. Er sagt wörtlich am Schluß seiner Arbeit: „Nach diesen Befunden scheinen wenigstens bei den Schweinen hiesiger Gegend tierpathogene Bakterien äußerst selten, dagegen Rotlaufbacillen überhaupt nicht im Darminhalt derselben vorzukommen.“ Angesichts derartiger Differenzen über das Vorkommen benannter In-

fektionserreger war es von Interesse, die Beobachtungen, die in der Literatur über das Vorkommen der Rotlaufbacillen auf den Schleimhäuten bei gesunden Schweinen niedergelegt worden sind, nachzuprüfen und eventuell weiter zu erhärten.

Eigene Untersuchungen.

Meine ersten Untersuchungen befassen sich mit dem Nachweis des Vorkommens der Rotlaufbacillen im Darme gesunder Schweine, und zwar an den Stellen, die von Olt als Prädilektionssitze angegeben worden sind, nämlich den Pfröpfchen in den Follikulartaschen der Ileocökaloöffnung. Olt gewann durch die Untersuchung zahlreicher Schweine aus verschiedenen Gegenden Deutschlands die Ueberzeugung, daß Rotlaufstäbchen an den erwähnten Stellen regelmäßig vorkommen. Durch Verimpfung von Spuren der Follikularpfröpfe auf Mäuse gelang es ihm meistens, eine tödliche Rotlaufinfektion hervorzurufen. Manchmal starben die Tiere an Infektion mit oviden Bakterien oder an Mischinfektionen. Diese Follikularpfröpfe wurden nun von mir in einer ganzen Reihe von Fällen einer genauen Prüfung auf die Anwesenheit dieser Krankheitserreger unterzogen. Es wurden nur Därme von ganz gesunden Schweinen gewählt, die frei von jeglichen Läsionen und jeder Rötung waren.

Mein sämtliches Untersuchungsmaterial entnahm ich von auf dem hiesigen Schlachthof geschlachteten Schweinen. Ich hatte mithin Gelegenheit, meine Untersuchungen auf alle Landesteile Ostpreußens auszudehnen, da die Zufuhr aus den verschiedensten Gegenden der Provinz erfolgt. Es wurde bald nach erfolgter Schlachtung der Schweine von jedem gereinigten Darm der Teil, der die Ileocökaloöffnung enthält, abgeschnitten und sobald wie möglich die in den Follikulartaschen sitzenden Pfröpfe untersucht.

Ausstrichpräparate werden mit den gebräuchlichen Farbstoffen gefärbt und zwecks Orientierung über die Bakterienflora mikroskopisch, speziell auf die Anwesenheit von Rotlaufbacillen, untersucht. Bei der Durchmusterung der Präparate tauchen ab und zu zwischen zahlreichen dicken, plumpen Stäbchen (*Bacterium coli commune*), oviden Bakterien und vereinzelt Kokken kleine Stäbchen auf, die in manchen Ausstrichen vereinzelt, in anderen zahlreicher auftreten. Diese Stäbchen zeigen manche Ähnlichkeit mit den Rotlaufbacillen. Nur scheinen sie etwas gedrungener und länger. Sie lassen sich nach Gram färben, ein Kriterium, wie es auch den Rotlaufstäbchen eigen ist. Der bakterioskopischen Prüfung folgte stets, da sie nur orientierend sein kann und absolut keine positiven Schlüsse in diesem Falle gestattet, der Impfversuch und die künstliche Züchtung des gesuchten Bakteriums. Olt hat die Impfung meist mit Erfolg angewandt, wie bereits zu Anfang erwähnt wurde. Ebenso gelang es Jensen bei seinen wenigen Untersuchungen, die Rotlaufkeime durch Impfung zu isolieren. Auch ich versuchte zuerst diese Methode zu ihrem Nachweis und zur Identifizierung.

Die Resultate dieser Impfversuche waren, speziell in den Wintermonaten, wenig ermutigend. Sie fielen fast alle negativ aus. So starben z. B. von 40 Mäusen, die von 20 verschiedenen Pfröpfen aus den Ileocökaltaschen geimpft wurden, 20 an verschiedenen Mikrobeninfektionen, teils durch ovoide, teils durch *Bacterium coli*, zweimal durch Staphylokokken hervorgerufen, 20 blieben am Leben. Es gelang in den geimpften Tieren weder bakterioskopisch (Gram-Färbung) noch durch das Gelatineplattenverfahren Rotlaufbacillen nachzuweisen. Die subkutane Verimpfung

von Organstückchen oder von Blut der eingegangenen Mäuse zeitigte ebenfalls stets negative Resultate. Auch Heinick hebt in seiner Arbeit hervor, daß die Mäuseimpfungen, die zum Nachweis der Rotlaufbacillen angestellt wurden, ganz negative Befunde ergaben. Es sagt: „Von 30 Mäusen, die mit einer Spur eines Pfropfes der Ileocökaltaschen geimpft wurden, erlag nur eine nach 2 Tagen einer durch Mikrokokken verursachten Infektion. Ueberimpfung von Blut und Organteilen der verendeten Maus auf eine andere lieferte gleichfalls kein positives Resultat.“

Wie diese Impfungen beweisen und wie Jensen in seiner Arbeit bemerkt, sind es in erster Linie die ovoiden Bakterien, die bei ihrem reichlichen Vorkommen und ihrer Pathogenität die Versuchsmäuse töten, bevor etwa vorhandene Rotlaufstäbchen ihre Virulenz entfalten können.

Jensen hat die Versuchstiere gegen die ovoiden Bakterien mit einem Serumpräparat, dem sogenannten Septicidin, hergestellt in dem Laboratorium der Rotlaufserumgesellschaft zu Landsberg a. W., immunisiert. Da er die Schutzkraft dieses Serums rühmt, so spritzte ich es gleichfalls, um die Verluste durch die Infektion benannter Bakterien auszuschalten, den zu impfenden Tieren ein. Doch waren die Resultate wenig ermutigend.

Eine Immunität wurde überhaupt nicht erzielt; nach wie vor gingen viele der mit Septicidin vorbehandelten Mäuse an Infektion durch ovoide Bakterien ein. Es wurde daher von weiteren Versuchen mit diesem Mittel Abstand genommen.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Die syphilitische Keratitis des Kaninchens.

Experimentelle Untersuchungen.

[Hygienisch-parasitologisches Institut der Universität Lausanne.]

Von B. Galli-Valerio und Vera Salomon.

Mit 3 Abbildungen im Text.

Hänsell¹⁾ ist der erste, welcher experimentell mit syphilitischem Material Augenerkrankungen bei Kaninchen hervorgerufen hat. Leider können die Resultate seiner Untersuchungen sich so deuten lassen, daß einige der Veränderungen tuberkulöser und nicht syphilitischer Natur waren. Im Jahre 1905 haben Siegel²⁾ und Schulze³⁾ die Experimente Hänsells wiederholt, aber die Resultate dieser Forscher sind auch nicht ganz einwandfrei. Es ist Bertarelli⁴⁾, der im Jahre 1906 die experimentelle syphilitische Keratitis des Kaninchens gut studierte und in den Läsionen *T. pallidum* fand. Die Versuche Bertarellis können wie folgt zusammengefaßt werden:

• 1) Daß es in mehr als 50 Proz. der Fälle möglich ist, bei Kornealverletzungen oder Einspritzungen in der Vorderkammer des Auges des

1) Graefes Archiv für Ophthalmologie. Bd. XXVII. III. Abt. 1881. p. 93.

2) Mediz. Klinik. 1905. p. 446.

3) Mediz. Klinik. 1905. p. 466; Beitr. z. pathol. Anat. Bd. XXXIX. 1906. p. 180; Klinisches Monatsbl. f. Augenheilkunde. 43. Jg. Bd. II. 1905. p. 253.

4) Rivista d'igiene e sanità pubblica. 1906. p. 269 und 646; Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLI. p. 320.

Kaninchens mit syphilitischem Virus, und nach einer Inkubationsdauer von 3—6 Wochen eine Keratitis parenchymatosa, in einigen Fällen mit Iritis verbunden, zu erzeugen. Bei Meerschweinchen sind die Resultate negativ.

2) Daß man in den Veränderungen der Cornea sehr oft zahlreiche Spirochäten findet, welche aber nach einiger Zeit verschwinden.

3) Daß es möglich ist, diese Keratitis von Kaninchen auf Kaninchen zu übertragen.

In demselben Jahre hat Scherber¹⁾ mit Einspritzungen von syphilitischem Material in der Vorderaugenkammer des Kaninchens kleine Knötchen an der Iris und nach 6 Wochen eine Keratitis parenchymatosa, der Keratitis syphilitica des Menschen sehr ähnlich, erzeugt. Aber er konnte nicht mit Sicherheit *T. pallidum* demonstrieren. Mit v. Benedek²⁾ suchte er die Kaninchenkeratitis auf *Macacus rhesus* zu übertragen, aber mit unsicherem Resultate.

Greef und Clausen³⁾ haben die Hornhautoberfläche und die Vorderaugenkammer des Kaninchens mit dem Material einer frisch ausgeschnittenen syphilitischen menschlichen Leistendrüse geimpft, und nach 3 Wochen haben sie Hornhauttrübung und eine Irispapil gehabt. *T. pallidum* wurde nur in Flach- und nicht in Querschnitten der Hornhaut gefunden. Klaus und Volk⁴⁾ haben bei Kaninchen Trübung der Cornea, Vaskularisation und Geschwüre des Limbus mit syphilitischem Material erzeugt, aber sie konnten keine Spirochäten finden und die Impfung auf Affen fiel negativ aus.

Hoffmann⁵⁾ sah, nach tiefen Skarifikationen der Cornea, Maculae auftreten, konnte aber nur einmal *T. pallidum* nachweisen.

Schucht⁶⁾ hat mit syphilitischem Material 51 Augen von 26 Kaninchen geimpft; als Material gebrauchte er für 4 Augen Organemulsion eines syphilitischen Affen, für 5 Augen Condylomata lata, und die Impfungen waren erfolglos. In allen anderen Fällen benutzte er frisch excidierte Inguinaldrüsen von Syphilitikern, die durch Stichelung der Cornea, Bildung einer Tasche in der Cornea, Einschieben und Einspritzen in die Vorderaugenkammer, Einspritzen in den Glaskörper geimpft wurden.

Von 51 geimpften Augen gingen 2 am Panophthalmitis zu Grunde; 3 Kaninchen gingen den 12.—14.—16. Tag ein; von den übrigen erkrankten 13 an Keratitis parenchymatosa, 3 zeigten Iritis und in einem Falle folgte der Iritis eine Keratitis, in einem anderen Auge Keratitis parenchymatosa mit einer der Iritis gummosa ähnlichen Affektion verbunden. Die Inkubationszeit der Keratitis parenchymatosa dauerte 19—43 Tage, durchschnittlich 29 Tage, die der Iritis betrug 11—23, durchschnittlich 16 Tage. Der Nachweis von *T. pallidum* in der Cornea gelang in 5 Fällen von Keratitis parenchymatosa und zwar in 3 Corneae in Schnitten nach Levaditi, in einer Cornea auf diese Weise als auch im Quetschsausstrich der frischen Cornea durch Giemsa-Färbung, und in einem Falle, der nur nach der letzteren Methode im Ausstriche untersucht wurde. Schucht führt den negativen Befund auf *T. pallidum* in Schnitten in 7 Fällen darauf zurück, daß nur Querschnitte der Cornea

1) Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 24.

2) Verhandl. der deutschen dermat. Gesellsch. IX. Kongreß. p. 255.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1454.

4) Verhandl. der deutschen dermat. Gesellsch. etc. p. 244.

5) Dermat. Zeitschr. 1906. p. 563.

6) Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 110.

gemacht wurden. Bei 6 Kaninchen mit Augensyphilis konnte Schucht weder im Blutextrakt Syphilisantigen noch im Blutserum Antikörper nachweisen. Die Impfung der Iris eines syphilitischen Kaninchens auf *Cercopithecus fuliginosus* hat nur ein zweifelhaftes Resultat gegeben. Bertarelli¹⁾ bestätigt, daß die Keratitis syphilitica der Kaninchen in Uebergangsreihen übertragbar ist, und zeigt, daß bei diesem Uebergang eine entschiedene Verstärkung des Virus stattfindet, und daß er mit dem Uebergangsvirus von Kaninchen *Macacus cynomolgus*, einige Meer-schweinchen, einen Hund und ein Schaf an der Cornea infizieren konnte.

Mühlens²⁾ hat nach 5 Wochen eine Keratitis parenchymatosa mit cornealer Impfung von Leistendrüsensaft eines Syphilitikers an zwei Kaninchen erzeugt, und in nach Giemsa gefärbten Präparaten, wie auch in frischen Geschabselpräparaten *T. pallidum* nachgewiesen.

Tomaczewski³⁾ konnte mit Impfungen von jungen, flach erodierten Primäraffekten in Hornhauttaschen oder in die Vorderkammer nach 6—8 Wochen (nur selten früher, nur einmal später) eine Keratitis parenchymatosa erzeugen. Die Keratitis war von Kaninchen zu Kaninchen übertragbar, und in der dritten Generation konnte T. eine Verkürzung der Inkubationsdauer beobachten.

Häufig beobachtete er Veränderungen der Iris in der 2.—3. Woche post infectionem, aber in diesen Verletzungen konnte T. keine Spirochäten finden. In mit Giemsa-Färbung gefärbten Ausstrichpräparaten der Cornea konnte T. fast stets *T. pallidum* nachweisen.

Schon im Monat November 1906 haben wir einige Untersuchungen mit der experimentellen syphilitischen Keratitis des Kaninchens unternommen. Wir können diese Experimente in 6 Reihen einteilen. Die Impfungen haben wir mit Skarifikationen der Cornea oder mit Einspritzung in die Vorderkammer ausgeführt.

In allen Fällen war das syphilitische Material gekratzt und für Skarifikationen direkt geimpft, für Einspritzungen hingegen mit etwas sterilisierter physiologischer Lösung zerrieben. Spirochäten haben wir im Ausstrichpräparate nach Giemsa-Färbung, in Schnitten nach Levaditi gesucht.

I. Reihe: Harter Schanker um 11,20' morgens den 19. Nov. 1906 excidiert. Sehr wenige Spirochäten.

11,30' morgens Impfung folgender Kaninchen:

No. 1. R. A. intracorneal. L. A. intraokulär.

No. 2. Idem.

No. 3. Beide Augen intracorneal.

No. 4. Idem.

No. 5. Idem.

Diese Kaninchen haben keine Veränderungen gezeigt. Nach 48 bis 51 Tagen getötet, konnte man mit den Levaditischen Methode in den Schnitten keine Spirochäten nachweisen.

II. Reihe: Schleimpapier der oberen Lippe um 3½ Uhr abends, den 19. Nov. 1906 excidiert. Sehr wenige Spirochäten. Um 4½ Uhr abends Impfung folgender Kaninchen:

No. 6. Beide Augen intracorneal.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 586; Rivista d'igiene e sanità pubblica. 1907. p. 259; Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 448 und 790.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Bd. XLIII. p. 586.

3) Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 1023.

12. Dez. R. A.: Schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

13. Dez. L. A. Idem.

18. Dez. Beide Augen: Stärkere pericorneale Injektion.

24. Dez. R. A.: Am Limbus neben Impfschnitt halbmondförmig getrübe erhabene Zone mit Trübung der Cornea und kleine Substanzdefekte.

31. Dez. R. A.: Starke pericorneale Injektion. Pannus $\frac{1}{5}$ der Cornea mit kleinem Geschwür. L. A.: Idem. Pannus $\frac{1}{8}$ der Cornea.

10. Jan. 1907. Beide Augen: Processus stillstehend. Verminderung der pericornealen Injektion. Das Tier wird getötet (53. Tag).

In Ausstrichpräparaten und in Schnitten der Cornea und in Schnitten der Nebennieren sind keine Spirochäten nachweisbar.

No. 7. Beide Augen intracorneal.

23. Nov. Beide Augen: Ein kleines, nadelkopfgroßes Knötchen am Rande der Iris.

4. Dez. R. A.: Ein anders Knötchen idem.

13. Dez. Beide Augen: Starke pericorneale Injektion nebem Impfschnitt, stärker am R. A.

14. Dez. R. A.: Am Limbus, neben dem Impfschnitt getrübe, erhabene Zone.

17. Dez. L. A.: Idem. R. A.: Beginnender Pannus.

18. Dez. L. A.: Beginnender Pannus.

21. Dez. Beide Augen: Starke pericorneale Injektion. Vaskularisierter Pannus. Kleine Geschwüre.

30. Dez. R. A.: Pannus $\frac{1}{5}$ der Cornea. L. A.: Pannus $\frac{1}{8}$ der Cornea.

5. Jan. 1907: Das Tier wird getötet (47. Tage).

In Ausstrichpräparaten der Cornea einige Spirochäten, in Schnitten der Cornea und der Nebennieren keine.

No. 8. R. A.: Intracorneal. L. A.: Intraokular.

26. Nov. L. A.: Panophthalmitis.

11. Jan. 1907. R. A.: Keine Veränderungen. Das Tier wird getötet (54. Tage).

In Ausstrichpräparaten und Schnitten der r. Cornea und in Schnitten der Nebennieren keine Spirochäten.

III. Reihe: Condyloma latum um 10 morgens, den 22. Nov. 1906 excidiert. Viele Spirochäten. Um 10 $\frac{1}{2}$ Uhr morgens Impfung an folgenden Kaninchen:

No. 9. R. A.: Intracorneal. L. A.: Intraokular.

24. Nov. L. A.: Panophthalmitis.

5. Dez. R. A.: Schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

11. Dez. R. A.: Idem. Stärker.

26. Dez. R. A.: Beginnender Pannus.

31. Dez. R. A.: Getrübe, erhabene vaskularisierte Zone am Limbus. Pannus mit kleinen Geschwüren.

5. Jan. 1907. R. A.: Pannus $\frac{1}{3}$ der Cornea.

8. Jan. Das Tier wird getötet (48. Tagen).

In Ausstrichpräparaten der R. Cornea einige Spirochäten, in Schnitten der R. Cornea und der Nebennieren keine.

No. 10. R. A.: Intracorneal. L. A.: Intraokular.

11. Dez. Beide Augen: Schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

26. Dez. Beide Augen: Idem. Stärker. Beginnender Pannus.

30. Dez. R. A.: Pannus $\frac{1}{8}$ der Cornea mit kleinen Geschwüren.

1. Jan. 1907. L. A.: Pannus $\frac{1}{2}$ der Cornea mit kleinem Geschwür.

11. Jan. Tier wird getötet (51. Tage).

In Ausstrichpräparaten und Schnitten der Cornea und in Schnitten der Nebennieren keine Spirochäten.

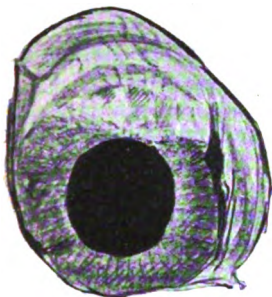


Fig. 1.

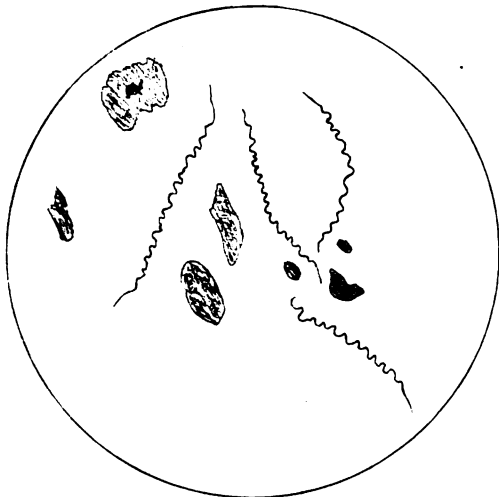


Fig. 2.

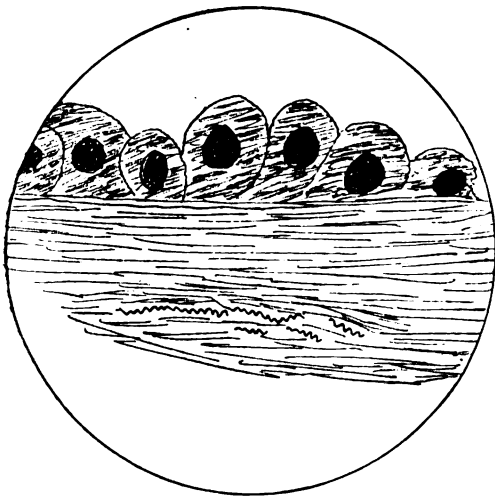


Fig. 3.

Fig. 1. Pannus des rechten Auges des Kaninchens No. 7 am 21. Dez. 1906. (Von Herrn Forel cand. med. gezeichnet.)

Fig. 2. Ausstrichpräparate (Giemsa-Färbung) der Cornea des Kaninchens No. 12 am 28. Jan. 1907. (Vergröß. etwa 1500-fach.)

Fig. 3. Schnitte (Levaditi) der Cornea vom Kaninchen No. 15 am 10. April 1907. (Vergröß. etwa 1500-fach.)

No. 11. Beide Augen intracorneal.

14. Dez. Beide Augen: Schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

17. Dez. L. A.: Idem. Stärkere Injektion.

18. Dez. L. A.: Beginnender Pannus.

20. Dez. L. A.: Starker Pannus mit kleinem Geschwür. R. A.: Stärkere pericorneale Injektion.

22. Dez. L. A.: Vaskularisierter Pannus nach der Mitte der Cornea vorgeschoben.

28. Dez. L. A.: Beginnende Rückbildung der Veränderungen. R. A.: Normal.

2. Jan. 1907. Das Tier wird getötet (42. Tagen).

In Ausstrichpräparaten und Schnitten der Cornea und in Schnitten der Nebennieren keine Spirochäten.

IV. Reihe: Abkratzung der linken Cornea des Kaninchens No. 7 am 5. Jan. 1907. Mehrere Spirochäten.

Am 5. Jan. 1907 Impfung an folgenden Kaninchen:

No. 12. R. A.: Intracorneal. L. A.: Intraokular.

16. Jan. R. A.: Sehr schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt. L. A.: Idem, aber stärker.

25. Jan. R. A.: Beginnender Pannus.

28. Jan. R. A.: Stärkere Injektion und Pannus mit einem kleinen Geschwür.

In Ausstrichpräparaten mehrere Spirochäten.

29. Jan. R. A.: Pannus $\frac{1}{5}$ der Cornea mit vaskularisierter erhabener verdickter Zone am Limbus. Kleine Geschwüre.

30. Jan. R. A.: Eucleatio bulbi.

In Ausstrichpräparaten einige Spirochäten, in Schnitten keine.

8. Febr. L. A.: Starke pericorneale Injektion.

11. Febr. L. A.: Idem. Beginnender Pannus.

13. Febr. L. A.: Idem. Pannus $\frac{1}{4}$ der Cornea.

In Ausstrichpräparaten keine Spirochäten.

18. Febr. Schwache Rückbildung der Veränderungen. Das Tier wird getötet (45. Tag).

In Ausstrichpräparaten und Schnitten der Cornea und Schnitten der Nebennieren keine Spirochäten.

V. Reihe: Abkratzung der R. Cornea des Kaninchens No. 12 am 28. Jan. 1907. Einige *T. pallidum*. Am 28. Jan. 1907 Impfung folgender Kaninchen:

No. 13: Beide Augen intracorneal.

19. Febr. Beide Augen: Schwache pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

22. Febr. Beide Augen: Idem. Stärker.

23. Febr. R. A.: Idem. Beginnender Pannus. Kleines Geschwür.

25. Febr. R. A.: Erhabene, verdickte, vaskularisierte Zone am Limbus. Pannus $\frac{1}{5}$ des Cornea. L. A.: Beginnender Pannus.

26. Febr. R. A.: Beginnende Rückbildung der Veränderungen. L. A.: Starker Pannus.

Das Tier wird getötet (29. Tag).

In Ausstrichpräparaten der R. Cornea viele Spirochäten. Im Ausstrichpräparaten der L. Cornea keine Spirochäten.

In Schnitten der R. Cornea sieht man einige Formen, die als degenerierte Spirochäten zu betrachten wären. Sie sind fein granuliert.

Abkratzung der R. Cornea des Kaninchens No. 12 am 30. Jan. 1907. Einige Spirochäten.

Am 30. Jan. 1907 Impfung folgender Meerschweinchen:

No. 14: Beide Augen intracorneal.

11. Febr. Beide Augen: Pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt.

5. März. Idem. Schwache. Ausstrichpräparate negativ.

16. April. Das Tier ist zu Grunde gegangen (49. Tag). Keine Veränderungen.

In Ausstrichpräparaten und in Schnitten der Cornea keine Spirochäten.

VI. Reihe: Abkratzung der R. Cornea des Kaninchens No. 13 am

26. Febr. 1907. Viele Spirochäten.

Am 26. Febr. 1907 Impfung an folgendes Kaninchen:

No. 15: Beide Augen intracorneal.

15. März. Beide Augen: Starke pericorneale Injektion neben dem Impfschnitt. Pannus.

28. März. Idem. Stärkerer Pannus.

6. April. Idem. Kleines Geschwür am L. A.

10. April. Das Tier wird getötet (44. Tag).

In Ausstrichpräparaten der beiden Augen: Viele Spirochäten. In Schnitten der beiden Augen hier und da einige Spirochäten, zwischen den Lamellen der Cornea. Sie sind sehr spärlich.

Fassen wir jetzt die Resultate unserer Untersuchungen zusammen, so sehen wir:

1) Daß von 5 Kaninchen, mit hartem Schanker geimpft, sich keine infizierten. Die Ursache ist vielleicht in der kleinen Zahl Spirochäten zu suchen, welche dieser Schanker enthielt, oder in der Tatsache, daß das Material nicht genügend zerrieben war.

2) Daß von 3 mit Schleimpapier geimpften Kaninchen, 2, welche intracorneal geimpft wurden, nach einer Inkubationsdauer von 25—35 Tagen die ersten Veränderungen der Keratitis gezeigt haben, und eines, rechts intracorneal, links intraokular geimpft, hat L. Auge an Panophthalmitis verloren, und am R. Auge keine Veränderung gezeigt.

3) Daß von 3 mit Condyloma latum geimpften Kaninchen, 2, rechts intracorneal, links intraokular geimpft, haben die Keratitis an beiden Augen nach 34 Tagen gezeigt, und eines an beiden Augen intracorneal geimpft hat nach 26 Tagen die Veränderungen der Cornea gezeigt.

4) Daß ein Kaninchen, mit Abkratzung der syphilitischen Keratitis eines anderen Kaninchens, an beiden Augen intracorneal überimpft, nach 20 Tagen Veränderungen an beiden Augen gezeigt hat. Abkratzung der Cornea dieses Kaninchens einem Meerschweinchen und einem Kaninchen intracorneal eingeimpft, hat beim ersten eine pericorneale Injektion erzeugt, beim zweiten eine Veränderung der Cornea nach 28 Tagen. Abkratzung der Cornea dieses Kaninchens an einem neuen Kaninchen intracorneal überimpft, hat Veränderungen an beiden Augen nach 17 Tagen erzeugt.

5) Daß in jedem Falle, wo Veränderungen erzeugt wurden, diese das typische Aussehen einer pericornealen Injektion hatten, neben dem Impfschnitt beginnend, und einer Keratitis parenchymatosa mit kleinen Substanzdefekten und Geschwüren.

6) Daß nur in einem Falle kleine Veränderungen an der Iris gesehen wurden.

7) Daß wir nicht in jedem Fall von Kaninchenkeratitis Spirochäten in Ausstrichpräparaten nachweisen konnten. Die Ursache muß wahrscheinlich darin gesucht werden, daß wir immer nur 2—3 Präparate machten, um die Cornea nicht zu verderben. In Schnitten haben wir nur zweimal sehr spärliche Spirochäten gefunden. Verdanken wir diese negativen Resultate einer Schädigung der Spirochäten in den Tiefschnitten oder dem Umstand, daß wir nur Quer- und nicht Flachschnitte gemacht haben? Der Fall, in welchem wir *T. pallidum* granuliert und

sehr spärlich gefunden haben, scheint uns für die erste Voraussetzung zu sprechen. In Schnitten der Iris und Nebennieren haben wir nie Spirochäten gefunden. Unsere Untersuchungen bestätigen diejenigen der anderen Beobachter, daß man mit Luesmaterial eine spezifische Keratitis parenchymatosa bei Kaninchen erzeugen kann. Sie beginnt mit Injektion der Gefäße am Limbus, neben dem Impfschnitt, erhabener, verdickter Zone am Corneaelimbus, Pannus, und sehr oft kleinen Geschwüren. Dieser Processus ist zur Rückbildung geneigt. Diese Keratitis ist übertragbar von Kaninchen auf Kaninchen, und bei Uebergang scheint die Inkubationsdauer sich zu verkürzen, die Intensität der Keratitis sich zu verstärken und die Spirochäten zahlreicher zu sein.

Lausanne, 4. Juni 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre.

I. Teil. Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus¹⁾.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Krakau.
Vorstand: Prof. Bujwid.]

Von Dr. **Philipp Eisenberg**, Assistenten am Institut.

In minimis tota existit natura.
Malpighi.

Wohl wenige Wissenszweige gibt es, in denen die Entwicklung einen so raschen Fortgang nimmt, wie in der Immunitätslehre. Jeder Tag bringt neue Erweiterungen des Tatsachenmaterials, neue Probleme und neue Erklärungsmöglichkeiten. Das Dogma von gestern ist heute vielleicht schon erschüttert und morgen kann es sich zeigen, daß es der Oekonomie des Denkens nicht mehr entspricht, daß es eine falsche oder unnütze Fragestellung war, die dazu geführt hat.

Speziell auf die letzten Jahre findet diese Bemerkung in erhöhtem Maße Anwendung; wir durchleben jetzt eine Gärungsperiode, die vielleicht ganz neue, ungeahnte Möglichkeiten in ihrem Schoße birgt. Wir sind Zeugen einer ziemlich tiefgreifenden Umwertung aller Werte, einer Revision der Grundbegriffe, die unsere Anschauungen über Infection und Immunität weitgehend umzugestalten verspricht. Ein zweifacher Weg wird unserer Wissenschaft durch die Natur ihres Gegenstandes und die Beschaffenheit ihrer Methoden vorgezeichnet; sie muß es versuchen, die Errungenschaften ärztlicher Beobachtung am Krankenbett analytisch in ihre Faktoren zu zerlegen und experimentell ihr Wesen, ihren Mechanismus sowie die Art ihres Zusammenwirkens zu ergründen. Damit ist aber erst die Hälfte der Aufgabe gelöst; die so gewonnene neue Erkenntnis wäre fragmentarisch und zusammenhanglos, wenn hier nicht die andere Form unserer Arbeit eingreifen würde, die Synthese. Aus den einzelnen Bausteinen, die die experimentelle Analyse liefert, muß sie

1) Nach einem Referat erstattet in der patholog. Sektion des X. Kongresses polnischer Aerzte und Naturforscher zu Lemberg am 23. Juli 1907.

trachten die Krankheit zu rekonstruieren, jedem dieser Bausteine muß sie seine Stelle im komplizierten Gebäude anweisen, seine Bedeutung, seine Tragkraft richtig ermessen, seine Beziehungen zu allen anderen ermitteln. Damit ist notwendigerweise ein Punkt von allergrößter Wichtigkeit verbunden, die Kontrolle unserer experimentellen und Gedankenarbeit an der Wirklichkeit, der unerbittlich objektiven Richterin menschlichen Tuns und Schaffens. Die Vorhersage, der größte Triumph der Wissenschaft, wird auf diese Weise zugleich zu ihrem Probestein; stimmt meine experimentell gewonnene Erkenntnis des Infektionsmechanismus, so muß die Beobachtung der Krankheit ihre Folgerungen bewahrheiten, trifft aber meine Vorhersage nicht zu, so beweist das die Unvollständigkeit oder Falschheit meiner Voraussetzungen. Diese Wirklichkeitsprüfung wirkt also in der Wissenschaft als eine Art von Regulationsmechanismus, der zwischen Spekulation und Erfahrung das nötige Gleichgewicht erhält und ihm dankt eben die Entwicklung der letzten Jahre manchen bedeutsamen Fortschritt.

Der Triumphgang der neunziger Jahre hatte uns die Erkenntnis der antitoxischen und bakteriziden Immunität erobert; geistvolle und scharfsinnige Untersucher haben uns die intimen Geheimnisse ihrer Wirkungsweise kennen gelehrt. Stolze himmelstrebende Gedankengebäude wurden aufgeführt — mit wenigen Ausnahmen schien das ganze Gebiet der Immunität beleuchtet und logisch erklärt. Aber Ausnahmen sind für die Evolution der Wissenschaft manchmal wichtiger als gesetzmäßiges Geschehen — auch hier zeigten sie an, daß nicht alles stimmt, ließen Zweifel daran aufkommen, ob das, was so überraschend schön und linienrein im Reagenzglas zur Beobachtung kommt, auch auf den kranken Körper Anwendung finden darf.

Der oben erwähnten experimentell-analytischen Richtung folgend, hat die moderne Bakteriologie durch Tier- und Reagenzglasversuch das Rätsel der Krankheit zu ergründen gesucht. Kein Wunder, daß die großartigen Erfolge, die sie dabei geerntet, sie verführt haben, den Wert dieser Versuche zu überschätzen, sie manchmal ohne genügende Kritik auf die „natürliche“ Pathologie zu übertragen. Wir vergessen nur allzuleicht das scharfe, aber wahre Wort des konsequentesten Gegners der Bakteriologie, daß eine Injektionskrankheit noch keine Infektionskrankheit ist. Als beredtes Mahnwort in dieser Richtung mögen die schönen Untersuchungen von Grassberger und Schattenfroh „Ueber antitoxische und antiinfektiöse Immunität“ angeführt werden, die am prägnanten Beispiel der Rauschbrandinfektion die Unzulänglichkeit der antitoxischen Immunität dartun. Auch zwischen Reagenzglas und Tierversuch herrscht nicht immer volle Uebereinstimmung; selbst im Falle der Toxin-Antitoxinneutralisation, die zweifellos einen physikalisch-chemischen Vorgang darstellt, ist das am normalen Tier neutral befundene Gemisch durchaus nicht unschädlich für irgendwie beeinflusste Tiere (Roux-Vaillard, Marengi).

Im Mittelpunkt unseres Interesses steht nach wie vor die Fundamentalfrage nach dem Mechanismus der Infektion, die sich in folgenden zwei Problemen ausdrückt: 1) Worauf beruht die natürliche Disposition resp. Immunität? 2) Wie kommt die spontane Heilung einer Infektionskrankheit zu stande? Die humorale bakterizide Theorie beantwortet beide Fragen einheitlich, indem sie als Grundlage der natürlichen Immunität die normale Bakterizidie der Körpersäfte, als diejenige der Heilung die erworbene bezeichnet. Nun bestreitet bekanntlich Metschnikoff und

seine Schule die Präexistenz von Komplement (Alexin) im natürlichen Blutplasma, somit also auch die Möglichkeit einer Säftbakterizidie unter natürlichen Verhältnissen. Eine vermittelnde Stellung nehmen zu dieser bisher noch nicht entschiedenen Frage Gruber und Futaki ein, die dem Kaninchenplasma eine bakterizide Wirkung auf Typhus und Cholera zuerkennen, dagegen eine solche auf Milzbrandbacillen bestreiten (im Gegensatz zur ausgesprochenen Bakterizidie des Serums). Sehr prägnant als Beispiel der Divergenz zwischen Reagenzglas- und Tierversuch ist der Versuch dieser Forscher, in dem das Serum eines tödlich mit Milzbrand infizierten Kaninchens in vitro die ihm enthaltenen Keime sowie eine beträchtliche Menge frisch zugesetzter abtötet, während in vivo eine ungehemmte Vermehrung der Bakterien im Blut vor sich geht. Prinzipielle Bedeutung kommt in dieser Frage den Befunden von Bail und Pettersson, Hoke sowie Hata zu, die nachweisen, daß in Gegenwart von Organen Bakterizidie überhaupt nicht zu stande kommt wegen Absorption eines der bakteriziden Serumbestandteile oder beider zugleich. Entfaltet also — was keineswegs feststeht — das Blut im Tierkörper bakterizide Eigenschaften, so erscheint es sehr fraglich, ob dieselben im Bereich der Organe, dort also, wo der eigentliche Kampf zwischen Organismus und Eindringling ausgefochten wird, überhaupt zur Geltung kommen. Die aus technischen Gründen im Laboratoriumsversuche meist gebrauchten Infektionspforten kommen für die natürliche Infektion nur selten in Betracht, sind aber, wie aus dem eben Gesagten hervorgeht, von allergrößter Bedeutung für die Art des Abwehrmechanismus. Die Handlichkeit und Eleganz des Reagenzglasversuchs haben ihm — und mit Recht — einen großen Kredit in unserer Lehre verschafft, doch muß man sich großer Vorsicht befleißigen, will man seine Ergebnisse auf das natürliche Geschehen in vivo übertragen. Und der klassische bakterizide Peritonealversuch ist ja nach Bails treffendem Wort nur ein modifizierter Reagenzglasversuch.

Wird auf diese Weise die Wirkungsmöglichkeit der Serumbakterizidie auf das beschränkte Gebiet des Zirkulationsapparates sowie geschlossener Körperhöhlen eingeengt, so geschieht es von einer anderen Seite ebenso eindringlich durch eine Tatsachenreihe, an die wir jetzt herantreten wollen. Auf Grund fremder, meist bis dahin unbeachtet gebliebener Tatsachen, sowie eigener eingehender Beobachtung habe ich vor 4 Jahren als erster dieses Material zusammengefaßt und einheitlich zu erklären gesucht in meiner Arbeit „Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus“. Seither ist eine stattliche Reihe von diesbezüglichen Untersuchungen erschienen (die meisten freilich, ohne meine Arbeit zu kennen oder zu nennen), die das Problem bedeutend erweitert und vertieft haben¹⁾, so daß ich den Zeitpunkt als geeignet betrachte, noch einmal alle Errungenschaften zusammenzufassen und ihre einheitliche Erklärung unter Benutzung zum Teil neuer Gesichtspunkte zu versuchen. Die große Bedeutung des Problems für die ganze Immunitätslehre, die aus folgendem erhellen wird, dürfte dies Unternehmen rechtfertigen.

Ist die bakterizide Immunität, wie behauptet wird, die Grundlage der

1) Das kann ich nicht von der im Jahresbericht für 1903 erschienenen Bemerkung v. Baumgartens behaupten, der meint, ich hätte Selbstverständliches und Altbekanntes neu aufgetischt. Diese wohlfeile Kritik erinnert mich nur — sit venia verbo — an das Columbasei, wenn ich mich auch in dieser Frage durchaus nicht für den Pfadfinder halte, wie aus meiner Arbeit übrigens klar hervorgeht.

spontanen Heilung der Infektionskrankheiten sowie der damit verbundenen länger oder kürzer anhaltenden Immunität gegen dieselbe, so muß man fordern, daß mit dem Zeitpunkt des Genesens der Infektionserreger aus dem erkrankten Organismus verschwinde. Diese Forderung wird wohl in der Mehrzahl der Fälle erfüllt, doch haben uns die Forschungen speziell der letzten Jahre mit so viel Ausnahmen von dieser Regel bekannt gemacht, daß jede Infektionstheorie damit zu rechnen und für sie eine folgerichtige Erklärung zu liefern verpflichtet ist. Wenn wir mit dem Abdominaltyphus anfangen, der von seiten der Klinik, Bakteriologie und Immunitätslehre am gründlichsten untersucht wurde, so sehen wir, daß das Serum Typhuskranker Typhusbacillen energisch abtötet, und daß in der Rekonvaleszenz diese Wirkung beträchtlich gesteigert wird, daß also in diesem Falle die bakterizide Immunität die besten Aussichten auf Erfolg hätte und hier ihre Feuerprobe bestehen sollte. Und doch erweisen zahlreiche Befunde diese Voraussetzung als falsch, indem eine Anzahl von Typhusrekonvaleszenten — und zwar oft in leichtesten Fällen von ambulatorischem Typhus — zu Bacillenträgern wird, die durch Wochen, Monate, selbst Jahre (einmal wahrscheinlich 42 Jahre lang) Bacillen in ihrem Stuhl ausscheiden. Die Bruststätte dieser Keime ist wohl meistens in der Gallenblase zu suchen; die in manchen solchen Fällen zweifellos festgestellte spezifische Serumbakterizidie (Friedberger) hat anscheinend nicht hingereicht, den Organismus von den Bacillen zu befreien. Man könnte jedoch einwenden, daß in der Gallenblase resp. im Lumen des Verdauungstrakts die Bakterien sozusagen außerhalb des Organismus resp. der Wirkungssphäre der Säftebakterizidie sich befinden und daß hiermit nur eine lokale Immunität der Schleimhäute in Betracht kommt. Dieser Einwand wird jedoch hinfällig angesichts der nicht allzu seltenen Fälle von Typhusbakteriurie, die monate-, selbst jahrelang andauern kann und deren Ursprungsstätte, die metastatischen Nierenherde, der Serumbakterizidie sehr wohl zugänglich sind. Das Gesagte findet natürlich ebenfalls Anwendung auf die zahlreichen und verschiedenartigen posttyphösen spezifischen Affektionen — die Thyreoiditiden und Strumitiden, die Osteomyelitiden, Haut- und Muskelabscesse u. s. w., die oft eine Zeitlang nach überstandem Typhus auftreten. Es ist klar, daß die heterotopischen Lokalisationen auf dem Blutwege entstehen müssen. Tatsächlich zeigen die Untersuchungen der letzten Jahre, daß die typhöse Bakteriämie ein konstantes Vorkommnis in der ersten Hälfte des Typhusprozesses bildet und daß schon während seiner Dauer Metastasen in der Milz und dem Knochenmark auf dem Blutwege zu stande kommen — trotz der hohen Bakterizidie dieses Blutes. Doch auch nach der Entfieberung — auf dem Höhepunkt der bakteriziden Serumkurve oder auf ihrem absteigenden Schenkel — können Bakterien noch im Blut nachgewiesen werden — wenn auch nur ausnahmsweise — und zwar, wie Conradis Beobachtungen zeigen, selbst in der Rekonvaleszenz eines Typhus (resp. Paratyphus) levis am 14. resp. am 28. Tage nach der Entfieberung. Daß solche Bakterien nicht notwendigerweise als unschädliche Marodeure einer geschlagenen Armee zu betrachten sind, beweisen die oft vorkommenden Typhusrückfälle, die auf solche überlebende Keime zurückzuführen sind. Es ist wohl nicht auszuschließen, daß in manchen dieser Fälle eine ungenügende Immunitätsreaktion seitens des Organismus vorliegt; doch kennen wir Fälle, wo trotz unzweifelhafter typischer Reaktion der Rückfall eintritt. So haben Stern und Korte bei einem Rekonvaleszenten den höchsten bis jetzt festgestellten

Serumwert (1:4000000) gefunden und trotzdem kam es 8 Tage darauf zu einem Rezidiv. Jürgens beschreibt einen Fall, in dem bei einem Rekonvaleszenten eine typische Reaktion (Serumtitre 0,006) vorlag und doch 7 Wochen darauf ein Rezidiv auftrat (der Serumtitre betrug in diesem Moment noch immer 0,01). — Ähnlichen Verhältnissen begegnen wir bei der Pneumonie, wenngleich hier die bakterizide Funktion nicht dem Serum, sondern den Leukocyten zukommt, die in erhöhter Zahl im Blut kreisen und in kolossalen Mengen von dort ins Lungenexsudat übertreten. Trotzdem nun in der Rekonvaleszenz noch dazu spezifische Schutzkörper auftreten, wurden bei Rekonvaleszenten im Sputum von Netter und Huber, im Blut von Prochaska virulente Pneumokokken nachgewiesen. Mit dieser Tatsache, daß das Ueberstehen einer Pneumokokkeninfektion und die Persistenz von Pneumokokken einander nicht ausschließen, stimmen die Beobachtungen von Tizzoni und Panichi gut überein, die bei aktiv und passiv immunisierten Tieren die Keime noch einige Monate nach der Infektion bei völliger Abwesenheit von Krankheitssymptomen nachweisen konnten. Bei Pest wurden von Gotschlich noch nach 76 Tagen, bei Influenza von Finkler noch nach einem Jahre die spezifischen Keime im Sputum gefunden. Ebenso haben Panichi und Karwacki bei anscheinend völlig gesunden Menschen Staphylokokken aus dem Blut gezüchtet, die aus alten lokalisierten Abscessen stammten. In dieselbe Kategorie gehört die Beobachtung von Denys und Leclef, daß bei Kaninchen, denen man am Ohr ein Streptokokkenerysipel erzeugt hat, schon nach 24—48 Stunden eine ausgesprochene Immunität gegenüber einer neuerlichen Infektion an einer anderen Stelle auftritt, während gleichzeitig am infizierten Ohr der Prozeß sich weiter verbreitet. Analoge Erscheinungen wurden in letzter Zeit bei der Tuberkulose festgestellt; bei mit Behring'schem Bovovaccin geimpften Kälbern, die einen beträchtlichen Grad von Immunität aufweisen, fanden Vallée, Lignières und Thomassen in makro- und mikroskopisch völlig normalen Drüsen virulente Tuberkelbacillen. Solche Feststellungen sind natürlich noch auffallender, wenn es sich um septikämische Infektionserreger handelt, von denen schon ein Individuum genügt, um eine tödliche Infektion herbeizuführen. Bei gegen Milzbrand immunisierten Schafen fand Sobernheim 8—14 Tage nach einer Injektion große Mengen von Bacillen im Blut (bei völligem Wohlbefinden der Tiere). Ähnliches konstatierte Pröschner bei gegen Staphylokokken immunisierten Mäusen, Weil und Huntemüller bei der Immunisierung von Kaninchen gegen Hühnercholera und Streptokokken, Citron bei der Immunisierung gegen Schweineseuche. Eine ganz eminente pathologische und sozialhygienische Bedeutung hat die Tatsache der Persistenz von pathogenen Keimen trotz überstandener Krankheit oder, richtiger gesprochen, trotz Fehlens von klinischen Krankheitserscheinungen bei der männlichen und weiblichen Gonorrhöe, eine so vielfach und vielseitig besprochene Frage, daß es sich wohl erübrigt, näher darauf einzugehen. Von Spirochätenerkrankungen wäre zunächst das Rückfallfieber zu berücksichtigen; was bei bakteriellen Erkrankungen jedenfalls als Ausnahme zu betrachten ist, wird hier zur Regel. Nach einem ersten Fieberanfall treten die Krankheitserscheinungen zurück, die Parasiten verschwinden aus dem Blut, um nach ungefähr einer Woche wiederzukehren. Im fieberfreien Intervall erhalten sich die Spirochäten in der Milz, zuweilen auch in wenigen Exemplaren im Blut, trotz Abwesenheit von Krankheitssymptomen und trotz Auftretens einer ausgesprochenen

spirilliziden Reaktion (Obermeier, Bliesener, Birsch-Hirschfeld, Sasecki, Myszkowski). In einem Fall konnte Naunyn sogar noch am 14. Tage der Apyrexie Spirochäten im Blute feststellen, Was die andere, noch weit wichtigere, menschliche Spirillose anbelangt — die Lues — so sind die diesbezüglichen Untersuchungen noch zu frühen Datums, um auf die uns hier interessierenden Fragen Antwort geben zu können. Jedenfalls zeigt auch hier die klinische Beobachtung Rückfälle, die durch symptomlose Intervalle voneinander getrennt sind; es müssen also die Spirochäten unterdessen in irgend welchen Schlupfwinkeln im Organismus persistieren. Gleichzeitig, und zwar ziemlich früh tritt eine gewisse Art von Immunität auf, indem der Organismus gegen cutane Reinfektion unempfindlich wird, resp. darauf anders reagiert, als auf die Primärinfektion. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Sur les rapports entre la sensibilisatrice hémolytique et le précipitinogène.

[Institut bactériologique de Liège. Prof. Malvoz.]

Par Boleslas Zebrowski (Varsovie).

L'immunité passive, conférée par l'injection d'un sérum spécifique, n'a qu'une courte durée. La cause du phénomène réside sans doute dans la disparition progressive des anticorps circulant dans le sang de l'animal injecté. Cette disparition marche toujours assez vite aussi bien les antitoxines¹⁾ que les agglutinines²⁾ et les sensibilisatrices³⁾ injectées disparaissent complètement de la circulation du sang après quelques jours ou quelques semaines.

Mais le phénomène ne paraît pas dû à l'élimination seule, puisque celle-ci est toujours modérée. On a constaté que les substances spécifiques introduites disparaissent de la circulation générale plus rapidement quand elles sont véhiculées par un sérum hétérologue; on a remarqué encore que l'immunité passive conférée par ce sérum hétérologue dure moins longtemps que l'immunité après l'injection du sérum provenant de l'animal de la même espèce⁴⁾: ces constatations ont amené à admettre que l'injection du sérum spécifique provoque dans l'organisme la formation de substances qui neutralisent directement l'action de ce sérum.

1) Passini, Versuche über die Dauer der antidiphtheritischen Schutzimpfung. (Wien. klin. Wochenschr. 1896. No. 48.) Vagedes, Ueber Antitoxinausscheidung bei einem mit Tetanuserum behandelten Menschen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX.)

2) Kraus u. Joachim, Zur Frage der passiven Immunisierung. (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 50.)

3) Pfeiffer u. Friedberger, Ueber den Verbleib der bakteriolytischen Immunkörper im tierischen Organismus nach der passiven Immunisierung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 131.)

4) Ransom, Voir Handb. d. pathog. Mikroorganismen v. Kolle u. Wassermann. Bd. IV. p. 487. Pfeiffer u. Friedberger, l. c. Schütze, Ueber das Verschwinden verschiedenartiger Immunsers aus dem tierischen Organismus. (Festschr. f. Robert Koch. 1903. p. 657.) Shibayama, Ueber die Wirkung bakteriolytischer Heilsers bei wiederholten Injektionen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906.)

Cette question a été discutée déjà pour les sérums antitoxique, agglutinant et sensibilisant.

Dehne et Hamburger¹⁾ trouvent que l'antitoxine tétanique du sérum de cheval injectée aux lapins disparaît de leur sang en même temps que le précipitinogène du sérum de cheval. Chez les lapins injectés préalablement avec du sérum normal de cheval les deux substances — antitoxine et précipitinogène — disparaissent plus rapidement que chez les lapins non préparés; chez ces derniers l'état réfractaire dure plus longtemps. In vitro, le sérum précipitant entraîne dans le précipité l'antitoxine tétanique. Des faits analogues sont observés aussi pour l'antitoxine diphtérique: par Sacharow²⁾ in vivo et par Weill-Hallé et Lemaire³⁾ in vitro.

Ainsi on tend à croire que c'est la précipitine formée après l'injection d'un sérum qui annihile l'action de l'antitoxine injectée.

Kraus et Pribram⁴⁾ soutiennent la même thèse pour les sérums agglutinants.

Pour les sérums sensibilisants la chose se présente autrement. Camus et Gley ont montré en 1898 que les injections répétées d'un sérum hémolytique provoquent la formation dans le sang de l'animal traité d'une substance qui neutralise l'action hémolytique du sérum injecté.

Le même phénomène est constaté pour les sérums cytotoxiques⁵⁾ et les sérums bactériolytiques⁶⁾.

Par l'application de méthodes appropriées on s'est assuré bientôt que l'action neutralisante des sérums spécifiquement antagonistes ou des „antisérums“ est dirigée tantôt contre l'alexine, tantôt contre la sensibilisatrice des sérums spécifiques.

Nous laissons de côté la question de l'antialexine.

Quant à ce qui concerne l'action antagoniste pour les sensibilisatrices, la plupart des auteurs l'attribuent à des substances tout à fait spécifiques qu'ils nomment „les antisensibilisatrices“ (Antiamboceptor, Antiummunkörper)⁷⁾. Les autres invoquent au contraire l'action des précipitines.

1) Dehne u. Hamburger, Experimentaluntersuchungen über die Folgen parentaler Einverleibung von Pferdeserum. (Wien. klin. Wochenschr. 1904. No. 29.) Hamburger, Ueber Antitoxin und Eiweiß. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 6.)

2) Sacharow, Ueber Injektionen von Diphtherieantitoxin bei Tieren, welche mit Normalpferdeserum vorbehandelt waren. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.)

3) Weill-Hallé et Lemaire, Antitoxine et précipitine. (Soc. biol. T. LXI 1906. p. 407. 16 nov.)

4) Kraus u. Pribram, Ueber Beziehungen der Immunkörper zur präzipitinogenen Substanz des Blutserums. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905.) Manteufel, Ueber das Verhalten der Agglutinine im passiv immunisierten Organismus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 41.) Pribram, Ueber das Verhalten der Agglutinine im passiv immunisierten Organismus. (Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 51.)

5) Weichardt, Recherches sur l'antispermotoxine. (Ann. Pasteur. 1901. p. 832.)

6) Pfeiffer u. Friedberger, Ueber Antikörper gegen die bakteriolytischen Immunkörper der Cholera. (Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 1.)

7) Bordet, Les sérums hémolytiques etc. (Ann. Pasteur. 1900. p. 257.) Ehrlich u. Morgenroth, Ueber Hämolytine. (Berl. klin. Wochenschr. 1901. No. 21/22.) Pfeiffer u. Friedberger, Weitere Beiträge zur Theorie der bakteriolytischen Immunität. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV.) Pfeiffer u. Friedberger, Weitere Beiträge zur Frage der Antisera etc. (Ibid. Bd. XXXVII.) Bordet, Les propriétés des antisensibilisatrices etc. (Ann. Pasteur. 1904. p. 593.) Ehrlich u. Sachs, Ueber den Mechanismus der Antiambozeptorenwirkung. (Berl. klin. Wochenschr. 1905. No. 19/20.) Muir et Browning, V. Bulletin Pasteur. T. IV. p. 281. Browning u. Sachs, Ueber Antiambozeptoren. (Berl. klin. Wochenschr. 1906.

On démontre l'action de l'antisensibilisatrice en mélangeant l'anti-sérum avec le sérum sensibilisant et les éléments impressionnables, tels que les globules rouges par exemple. On centrifuge le mélange — après une heure par exemple — et on lave les globules avec la solution physiologique. L'alexine ajoutée aux globules qui ont subi ces opérations ne provoque pas d'hémolyse, tandis que les globules impressionnés uniquement par le sérum sensibilisant s'hémo lysent complètement sous l'influence de cette alexine. Or, dans le mélange: antisérum + sérum sensibilisant + globules, deux sérums entrent en jeu, dont l'un — l'anti-sérum — est obtenu par les injections répétées de l'autre. Donc l'anti-sérum contient la précipitine pour le sérum sensibilisant et on peut supposer que le précipité, qui se forme dans le complexe: antisérum + sérum sensibilisant, se fixe sur les globules et provoque la suppression de l'hémolyse par simple absorption d'alexine. C'est ce qui arrive parfois comme l'ont montré Pfeiffer et Moreschi¹⁾. Mais cette interprétation ne suffit pas dans tous les cas observés, puisque la formation du complexe: précipitine + précipitinogène ne suffit pas toujours — dans les conditions d'expérience citées plus haut — pour provoquer la déviation de l'alexine²⁾.

Du reste l'antisérum agit aussi sur les éléments impressionnés qui sont soigneusement lavés après la sensibilisation³⁾. Ici une autre interprétation s'impose. On peut bien supposer que la sensibilisatrice spécifique et le précipitinogène sont soudés l'un à l'autre assez intimement. Après l'absorption et malgré les lavages répétés une partie de ces substances reste sur les globules et la précipitine introduite ultérieurement avec l'antisérum en précipitant le précipitinogène immobilise en même temps la sensibilisatrice liée avec celui-ci. Si les choses se passaient ainsi, on pourrait bien rapprocher l'action des „antisérums“ sur les sensibilisatrices de l'action des sérums précipitants sur les antitoxines (Dehne et Hamburger) et les agglutinines (Kraus et Pribram). On pourrait en un mot nier l'existence des antisensibilisatrices comme substances sui generis. Ce côté de la question est abordé par Wassermann et Bruck dans leur mémoire qui a paru en 1905⁴⁾.

Ces savants opèrent sur le sérum normal de la poule, qui est fortement hémolytique pour le sang du lapin. Tout au contraire, le blanc d'œuf de la poule ne contient ni alexine ni sensibilisatrice pour les globules du lapin. Wassermann et Bruck injectent au lapin plusieurs fois du blanc d'œuf de la poule et obtiennent un sérum qui précipite non seulement le blanc d'œuf de la poule mais aussi le sérum de la même espèce. Evidemment ce sérum ne peut contenir ni antialexine ni antisensibilisatrice pour le sérum normal de la poule, hémolytique pour les hématies du lapin. Or, ce sérum, quoique fortement précipitant pour le sérum de la poule n'influence nullement ce dernier dans son action hémolytique dirigée contre les globules du lapin. Donc la pré-

No. 20/21.) Friedberger u. Moreschi, Ueber Antiambozeptoren etc. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 31.)

1) Pfeiffer u. Moreschi, Ueber scheinbare antikomplementäre und Antiambozeptorenwirkungen präzipitierender Sera im Tierkörper. (Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 2.)

2) Browning u. Sachs, l. c.

3) Bordet, l. c. Pfeiffer, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906. Beiheft. Diskussion. p. 38.

4) Wassermann u. Bruck, Ueber den Einfluß der Bildung von Eiweißpräzipitinen auf die Dauer der passiven Immunität. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. 1905.)

cipitine en entraînant le précipitinogène du sérum hémolytique ne peut nullement immobiliser la sensibilisatrice du même sérum. D'où les auteurs concluent que l'action antisensibilisatrice est due à des substances spécifiques distinctes des précipitines.

Cette expérience de Wassermann et Bruck serait tout à fait concluante, si elle portait sur un sérum hémolytique spécifique, puisque l'action des antisensibilisatrices les plus étudiées jusqu'à présent est dirigée contre les sensibilisatrices obtenues au cours d'immunisation. En opérant sur un sérum normal les auteurs n'ont pas pu pousser sa dilution au delà de 1 : 5. On sait que la déviation de l'alexine provoquée par le complexe: précipitine + précipitinogène peut manquer totalement quand la dilution du sérum contenant le précipitinogène n'est pas suffisamment forte. De l'autre côté les faibles dilutions du sérum précipitable peuvent ne pas être suffisantes pour que les substances spécifiques contenues dans ce sérum soient immobilisées par la précipitine (v. le mémoire de Kraus et Pribram et la polémique entre Pribram et Manteufel).

C'est pourquoi nous nous sommes décidé à reprendre la question avec un sérum hémolytique spécifique et avec des dilutions plus fortes. Le sérum hémolytique choisi est du sérum de chèvre ayant reçu quelques injections de globules de vache bien lavés. Quant à la précipitine, elle était représentée par le sérum d'un lapin ayant reçu du sérum de vache. Ce dernier ne contenant pas de sensibilisatrice pour les globules de la vache, le sérum précipitant du lapin ne devait pas non plus renfermer d'antisensibilisatrice. Et en effet, quoique fortement précipitant pour le sérum de chèvre (en même temps que pour le sérum de vache), ce sérum lapin-vache n'empêchait nullement l'action de la sensibilisatrice du sérum chèvre-vache vis-à-vis des globules de vache.

Avant d'essayer l'effet de la précipitation du sérum chèvre-vache par le sérum lapin-vache, nous étions obligé d'absorber le sérum précipitant lapin-vache par les globules de vache, lavés 8 fois avec de grandes quantités d'eau physiologique. C'est que notre sérum lapin-vache en même temps que précipitant pour le sérum de vache et de chèvre était faiblement hémolytique pour le sang de vache.

Le tableau suivant montre l'action sensibilisante du sérum lapin-vache vis-à-vis des globules de vache avant et après l'absorption.

Alexine du lapin	Sang de vache 5 %	Sérum lapin-vache 56°	Résultats d'hémolyse avec le sérum	
			non absorbé	après l'absorption
0,1	0,5	0,2	—	traces
0,1	0,5	0,1	—	nulle
0,1	0,5	0,05	—	"
0,1	0,5	0,025	forte	"
0,1	0,5	0,01	moyenne	—
0,1	0,5	0,005	faible	—
0,1	0,5	0,0025	traces	—
0,1	0,5	0	nulle	—

L'absorption est produite en mélangeant le sérum lapin-vache chauffé à 56° non dilué avec partie égale de globules de vache lavés. Après une heure à l'étuve, on centrifugeait le mélange et on reprenait le sérum. L'essai de l'action sensibilisante du sérum lapin-vache avant et après

l'absorption est fait en mélangeant des quantités décroissantes du sérum avec 0,5 c.c. de la solution 5 % des globules de vache lavés. On ramenait partout la quantité du liquide à 1 c.c. Après une heure à l'étuve, on centrifugeait les mélanges, on décantait les liquides et on lavait les dépôts avec de la solution physiologique. Après une nouvelle centrifugation et décantation, on ajoutait partout 0,9 c.c. de la solution physiologique et 0,1 c.c. d'alexine. Les mélanges restaient alors une heure à l'étuve et pendant la nuit dans la glacière.

Le tableau montre qu'après l'absorption, le sérum lapin-vache ne sensibilise plus les globules de vache à la dose de 0,1 c.c. pour 0,5 c.c. de la solution des globules. Le même sérum absorbé ajouté à la même dose de 0,1 c.c. à un centimètre cube de dilutions du sérum de chèvre à $\frac{1}{10}$, $\frac{1}{100}$ et $\frac{1}{1000}$ donne après dix minutes un trouble au fond des tubes et après une demi-heure un précipité.

Le tableau suivant démontre que la précipitation du sérum hémolytique chèvre-vache chauffé à 56° par le sérum lapin-vache absorbé n'empêche nullement l'action sensibilisante du sérum spécifique.

Sérum précipitant lapin-vache absorbé	Sérum hémolytique chèvre-vache 56°		Globules de vache dilués 5 %		Alexine du lapin		Hémolyse
0,01	0,01	Eau à 0,5 c.c. Les mélanges restent 1/2 d'heure à 37° C.	0,5	Les mélanges restent une heure à 37° C. Centrifugation. Un lavage. Décantation.	0,15	Eau à 1 c.c. Restent une heure à 37° C et pendant la nuit dans la glacière.	presque complète
0,025	0,01		0,5		0,15		idem
0,05	0,01		0,5		0,15		idem
0,1	0,01		0,5		0,15		idem
0	0,01		0,5		0,15		idem
0	0,005		0,5		0,15		très forte
0	0,0025		0,5		0,15		moyenne
0	0,001		0,5		0,15		nulle
0	0		0,5		0,15		nulle

La dilution du sérum contenant le précipitinogène et la sensibilisatrice est 1 : 100. Dans cette dilution le sérum hémolytique ne contient même plus une complète dose hémolysante; de l'autre côté, dans la même dilution, le sérum hémolytique est fortement précipité. Malgré les conditions les plus favorables d'expérience nous voyons que la précipitation du précipitinogène du sérum de chèvre n'amène point l'inaction de la sensibilisatrice. Nous sommes donc obligé de conclure que le précipitinogène et la sensibilisatrice du sérum hémolytique essayé sont indépendants l'un de l'autre.

Nous nous sommes posé la question de savoir si on ne pouvait pas trouver une dissociation des propriétés antisensibilisatrice et précipitante dans d'autres combinaisons de systèmes hémolytiques. Les sérums antisensibilisateurs contiennent toujours la précipitine. Il s'agissait donc de chercher des sérums fortement précipitants sans présenter une action antisensibilisatrice. Nous avons essayé quelques combinaisons¹⁾ et nous nous sommes arrêté sur l'une d'elles qui nous a donné les conditions d'une expérience aussi probante que possible, puisque le sérum hémolytique essayé comme très actif pouvait être précipité dans des dilutions assez fortes, ce qui constitue une condition nécessaire pour

1) Notamment les sérums hémolytiques poule-vache, cobaye-vache, chien-vache et les trois sérums précipitants correspondants, obtenus des lapins.

mettre en évidence l'action neutralisante de la précipitine. C'est le sérum du chien ayant reçu des globules de vache. Ce sérum à la dose de 0,005 ajouté de 0,1 c. c. du sérum frais du cobaye neuf hémolysait complètement 1 c. c. des globules de vache dilués à 5 %.

Nous avons obtenu d'autre part un sérum de lapin précipitant pour le sérum du chien: 0,05 du sérum lapin-chien précipitait 1 c. c. de la dilution 1 : 2000 du sérum de chien. Ce sérum mélangé avec le sérum du chien présentait le phénomène de la déviation de l'alexine jusqu'à la dilution de 1 : 10000 du sérum du chien. Après avoir constaté que le sérum lapin-chien lui même ne sensibilisait point les globules de vache à l'action de l'alexine, même employé à doses massives, nous avons essayé l'effet de la précipitation du sérum hémolytique.

En rapprochant notre méthode de celle de Kraus et Pribram, nous avons précipité le sérum chien-vache chauffé à 56° avec de fortes doses du sérum lapin-chien. Après 18 heures nous avons centrifugé le liquide et nous avons essayé sa richesse en sensibilisatrice. Voici deux exemples tirés de nos protocoles.

I. Mélange: sérum précipitant lapin-chien à 0,4 + sérum hémolytique chien vache à 0,05 + eau physiologique ad 1,0 reste 18 heures à la glacière. On reprend le liquide qui résulte de la centrifugation du mélange et on lui ajoute les globules de vache. Après une heure à l'étuve, on centrifuge et on lave les globules. Après la décantation on dilue le dépôt des globules dans 1,9 c. c. d'eau physiologique et on ajoute 0,1 c. c. d'alexine du cobaye.

Liquide centrifugé	Contient en doses hémolysantes	Globules de vache		Alexine du cobaye		Hémolyse
0,4 c. c.	4 doses	1 c. c.	Eau ad 2 c. c. Restent 1 heure à l'étuve. Centrifugation et lavage.	0,1 c. c.	Eau ad 2 c. c. Restent 2 heures à l'étuve et pendant la nuit à la glacière.	complète
0,3 "	3 "	1 "		0,1 "		idem
0,2 "	2 "	1 "		0,1 "		idem
0,1 "	1 "	1 "		0,1 "		idem
0,05 "	0,5 "	1 "		0,1 "		très forte
0 "	0 "	1 "		0,1 "		très faible

II. On mélange 0,5 du sérum précipitant avec 0,01 du sérum hémolytique et on ajoute de l'eau physiologique ad 1 c. c. Les autres conditions d'expérience restent les mêmes.

Liquide centrifugé	Contient en doses hémolysantes	Globules de vache	Alexine du cobaye	Hémolyse
1,0 c. c.	2 doses	1 c. c.	0,04 c. c.	complète
1,0 "	2 "	1 "	0,02 "	forte
0,5 "	1 dose	1 "	0,1 "	complète
0 "	0 "	1 "	0,1 "	très faible

Il résulte de ces expériences qu'un sérum fortement précipitant employé à doses massives n'abolit point l'action sensibilisatrice d'un sérum correspondant, même quand celui-ci est fortement dilué 1 : 20—100, ce qui correspond à 10 dix doses et à 2 doses hémolysantes.

Nous sommes donc obligé de conclure que le précipitinogène et la sensibilisatrice du sérum chien-vache sont indépendants, d'autant plus que l'absorption de la sensibilisatrice par les

globules de vache n'amène point la diminution de la quantité du précipitinogène, ce qui résulte de l'expérience suivante.

On absorbe le sérum chien-vache dilué à 1 : 10 avec la quantité égale de globules de vache. Après une heure à l'étuve, on centrifuge le mélange et on essaye l'action sensibilisante du sérum avant et après l'absorption.

Globules de vache	Alexine du cobaye	Sérum chien-vache	Hémolyse par le sérum	
			non absorbé	absorbé
1 c. c.	0,1	0,1	—	très forte
1 "	0,1	0,04	—	forte
1 "	0,1	0,02	—	faible
1 "	0,1	0,005	complète	—

La plus grande partie de la sensibilisatrice donc est disparue. Non-obstant, le sérum absorbé continue à précipiter avec le sérum lapin-chien dans les mêmes dilutions qu'avant l'absorption.

En résumé, nous pouvons dire que dans les deux combinaisons des sérums étudiées par nous une forte action précipitante existe sans aucune trace d'action antisensibilisante.

Etant donné d'autre part que les sérums antisensibilisants connus jusqu'à présent ne sont pourvus que d'une action précipitante médiocre (d'après une communication orale de Bordet; v. aussi le mémoire de Browning et Sachs), leur propriété paraît bien due à une substance spéciale, différente de la précipitine, suivant la thèse soutenue notamment par Bordet.

Liège, Mars 1907.

Nachdruck verboten.

Changes in the third serum component due to exposure to corpuscles¹).

[From the Pathological Laboratory of Indiana University.]

By **Wilfred H. Manwaring**, Sc. B., M. D.,
Associate Professor of Pathology, Indiana University.

With 6 diagrams.

In a previous paper²), it was pointed out that goat serum, immunized against sheep corpuscles, contains, in addition to the thermostable amboceptor and thermolabile complement, an active third component. Work was undertaken to determine the effect on this third component of exposure to washed sheep corpuscles.

To do this, accurately measured quantities of third component (heated normal goat serum) were exposed to corpuscles for three hours at 37,5° C, and over night in the ice chest, and were then freed from the corpuscles by centrifugation. The effect of this exposed third component on hemolysis was compared with that of unexposed third com-

1) Presented before the Chicago Pathological Society, April 11, 1907, and before the American Association of Pathologists and Bacteriologists, at Washington, D. C., May 7, 1907. Work aided by the Rockefeller Institute for Medical Research.

2) *Centrabl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 455.*

ponent, kept under identical conditions, except for contact with corpuscles. Four sets of data, so obtained, are shown graphically in Figure 1 (a and b).

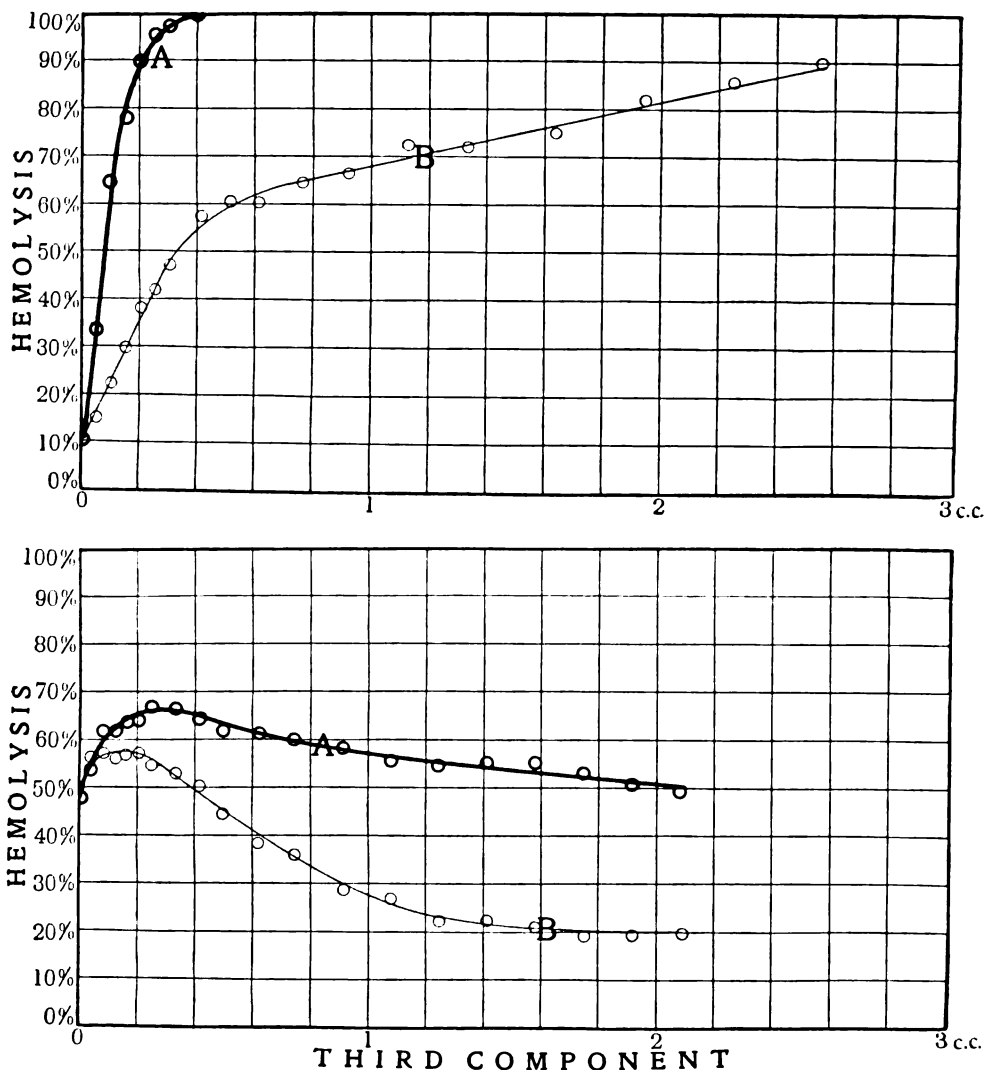


Fig. 1a.

Fig. 1. Changes in third serum component due to contact with corpuscle. Each curve shows the changes in hemolytic power, an increasing amounts of third component are added to a constant amount of hemolytic serum. A = Curve

From this figure it is seen that exposure to corpuscles in all cases produces changes in the third component. A third component that is originally auxilytic (hemolysis-increasing) has its auxilytic power decreased by such exposure, or even replaced by an antilytic power. A third component that is originally antilytic, has its antilytic powers increased.

hypotheses can be put forward to account for this change.

First, that certain hemolytically active substances are absorbed from the third component, by the corpuscles, during such exposure; and, second,

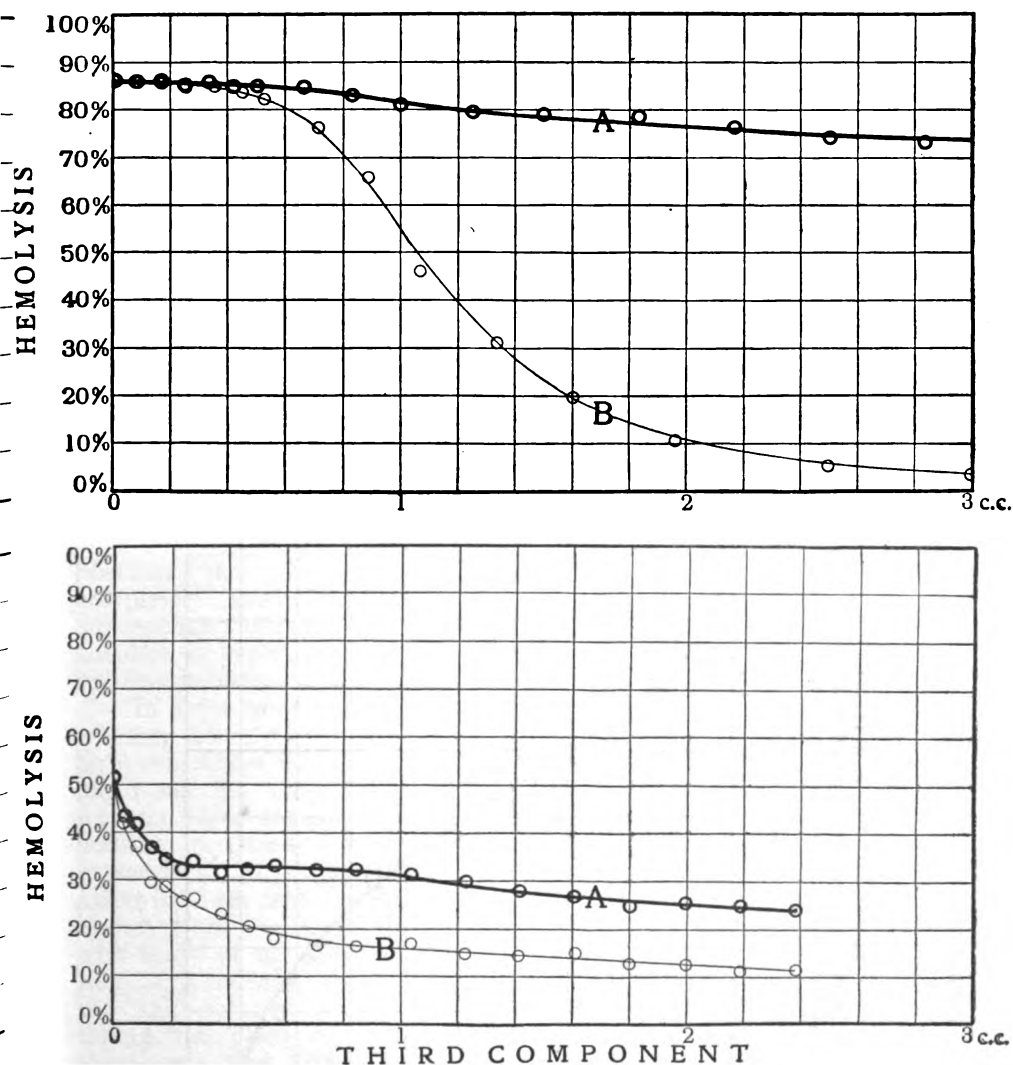
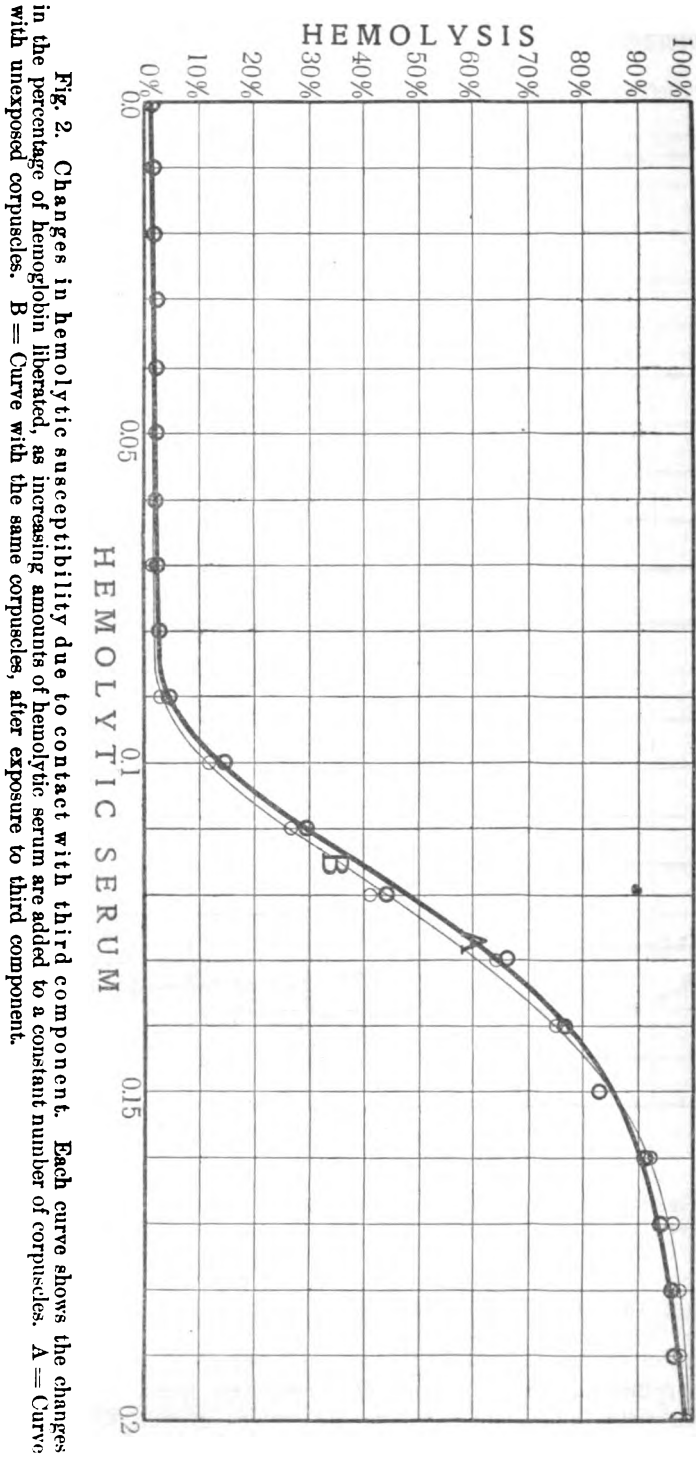


Fig. 1b.

with unexposed third component. B = Curve with same third component, after exposure to corpuscles.

that certain substances are given off, from the corpuscles, into the component.

In order to determine whether or not active substances are absorbed by the corpuscles, carefully washed corpuscles were exposed to third component, were then freed from the component by centrifugation, repeatedly washed with physiological saline, and their susceptibility to hemo-



lysis compared with that of unexposed corpuscles, prepared, kept and washed under identical conditions, except for the presence of third component.

The data from such an experiment are given graphically in Figure 2. From this it is seen that the corpuscles are unchanged in hemolytic susceptibility, after such exposure, within the limits of the experimental error¹⁾.

We are therefore obliged to conclude that the hemolytically active substances of the third component are either not absorbed by corpuscles, or, if absorbed, are held in such loose chemical combination that they are completely removed by subsequent washings. Absorption is experimentally undemonstrable.

In order to determine whether hemolytically active substances are given off from the corpuscles into the third component, washed corpuscles were exposed to physiological saline (0.85 per cent. NaCl), under conditions identical with those of the absorption experiments above, the salt solution simply taking the place of the third component. The salt solution was then freed from corpuscles, and its

1) In two such experiments the hemolytic susceptibility was found slightly changed by such exposure, but in each case the changes were the opposite to those that would have followed a retention of the third component used. The cause of this change has not yet been determined.

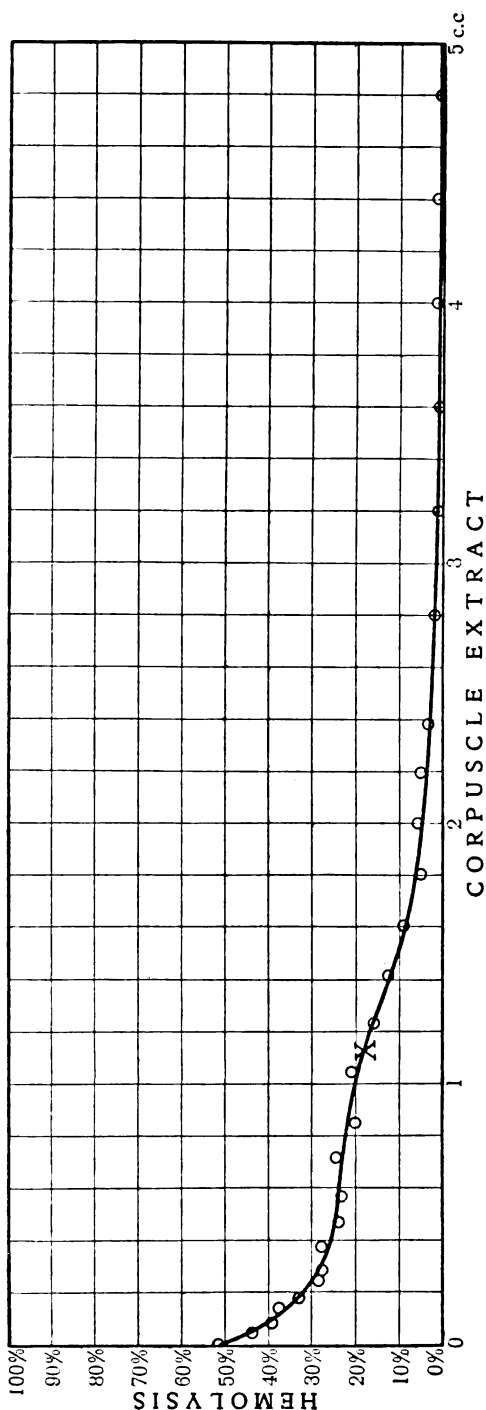


Fig. 3. The antilytic action of corpuscle extract. The curve shows the changes in hemolytic power, as increasing amounts of corpuscle extract are added to a constant amount of hemolytic serum.

effect on hemolysis tested. It was found that this exposed salt solution (corpuscle extract) was in all cases powerfully anti-hemolytic (Figure 3).

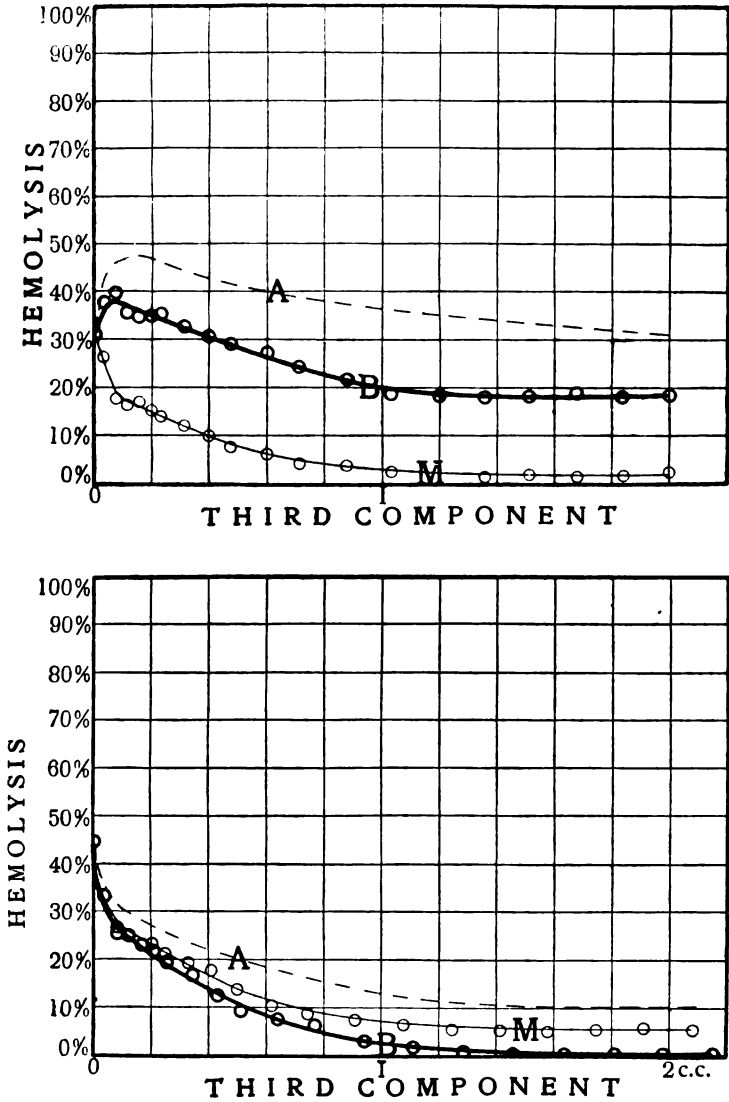


Fig. 4. Changes in third component due to addition of corpuscle extract. A = Curve with unexposed third component. B = Curve with exposed third component. M = Curve with a mixture of equal parts of unexposed third component and corpuscle extract.

To test whether the giving off of this antilytic substance is sufficient to account for the observed changes in exposed third component, mixtures of equal parts of unexposed third component and corpuscle extract were made, and their action compared with that of exposed third component. Three sets of data thus obtained are given in Figures 4 and 5.

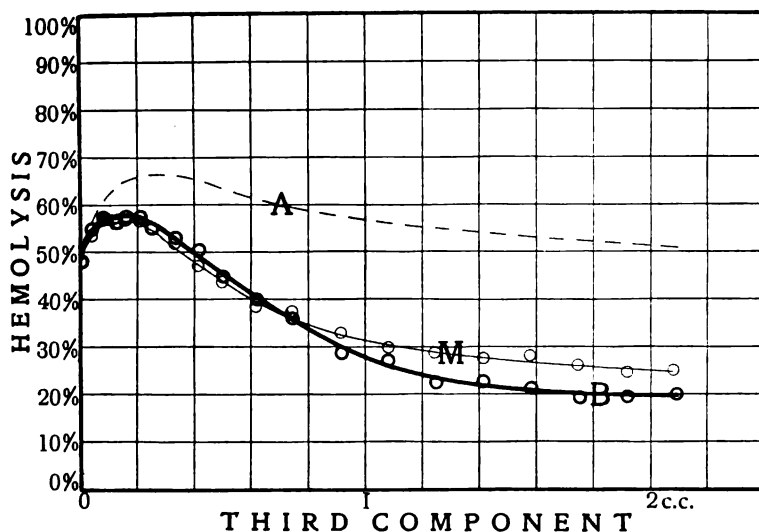


Fig. 5. Changes in third component due to addition of corpuscle extract. Curves, as in fig. 4, with unexposed third component (A), exposed third component (B), and a mixture of equal parts of unexposed third component and corpuscle extract (M).

From these figures it is seen that the addition of an equal volume of corpuscle extract at times confers on the third component greater antilytic powers than that acquired by exposure to corpuscles. At other times it confers a less antilytic power; while in certain experiments it

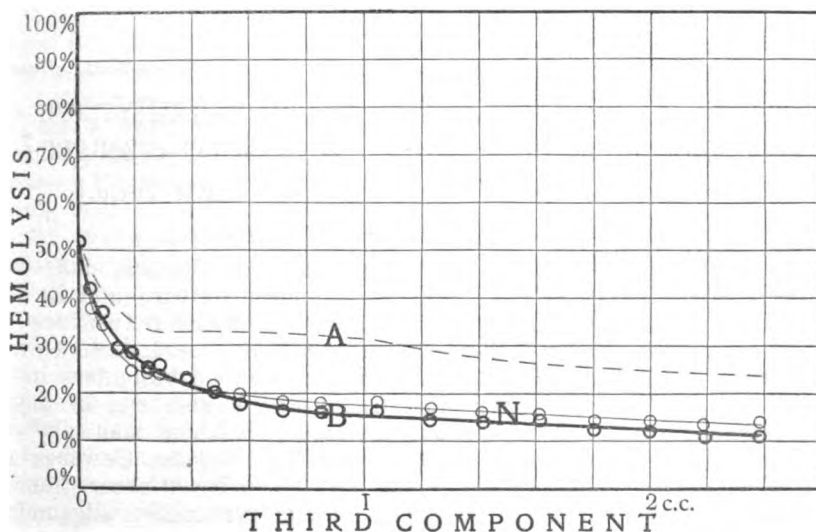


Fig. 6. The nearly coincident curve due to addition of corpuscle extract. A and B = Curves with unexposed and exposed third component, as in figs. 4 and 5. N = Curve with a mixture of one part of unexposed third component and a half part of corpuscle extract.

confers greater antilytic power when the component is tested in small amounts, but less antilytic power when tested in larger quantities.

The nearest artificial approximation to an exposed third component was obtained in one experiment by adding a half-volume of corpuscle extract. The approximating curves of this experiment are shown in Figure 6.

Summary.

1) Heated normal goat serum (pure third component) is changed chemically by exposure to sheep corpuscles. A third component that is originally auxilytic has its auxilytic powers decreased by such exposure; while a third component that is originally antilytic has its antilytic powers increased.

2) Absorption of the third component by washed sheep corpuscles can not be demonstrated.

3) Washed sheep corpuscles give off into physiological saline a powerful antilytic substance.

4) The addition of this antilytic substance to unexposed third component, produces approximately the same changes as those produced by exposure to corpuscles. The amount of corpuscle extract necessary to produce this change, however, varies in different experiments. In one experiment it may be the same as the amount given off by the corpuscles, under identical conditions, into physiological saline; in another experiment, it may be a much smaller amount; and in a third experiment, a much larger amount.

5) Slight differences between experimental curves, indicate that the giving off of antilytic substances may not be the only change produced by corpuscles on exposed third component. The nature of these possible additional changes is still a matter of pure conjecture.

Nachdruck verboten.

Können die Stoffe des Tuberkels von den Antikörpern des Tuberkelbacillus unabhängige Antikörper erzeugen?

[Aus dem Institut für Hygiene der Universität Turin.]

Von Dr. E. Bertarelli, Privatozent.

Bei den infektiösen Prozessen glaubt man gewöhnlich, daß, wenn das Gewebe von bakteriischen Elementen heimgesucht wird und in demselben irgend eine Veränderung stattfindet (der höchste Ausdruck der Veränderung ist von der Nekrose dargestellt), das veränderte Gewebe ein inaktiver Teil wird. Als inaktiv wird das Gewebe besonders in Beziehung zu der Immunisierung des Organismus angesehen; in diesem Sinne wird z. B. der Tuberkel aufgenommen, welchen man als eine reaktive Bildung mit terminalem Absterben (Kaseose) des Gewebes auffaßt; ebenso wird der Rotzknoten als eine reine Reaktionserscheinung ohne eine direkte und aktive Beteiligung an dem eventuellen allgemeinen Verteidigungs- resp. Schutzprozesse des Organismus angesprochen, abgesehen von dem mechanischen Schutzprozeß, welcher in seinem ersten Stadium durch das Herbeiströmen von beweglichen Elementen ausgeübt wird, und von der besonderen phagocytären Tätigkeit.

Wenn auf irgend einer Weise eine Immunität entsteht, so wird dieselbe meistens den vom pathogenen Keim herstammenden Stoffen zugeschrieben, welche entweder eine Anregung des Schutzverm gens bewirken oder die Elemente zur Bildung von Schutzstoffen (Ambozeptoren nach Ehrlich, Antikörper im weiteren Sinne) anregen.

Daß die von der Infektion befallenen Gewebe sich in aktiver Weise an dem Immunisierungsproze  beteiligen, wird von den Meisten in Abrede gestellt, und die zu Gunsten dieser Annahme angeführten Gründe haben keinen beweisenden Wert.

Es haben z. B. gewisse Autoren versucht, die antikarbunkiose Immunisierung durch Anwendung von auf andere Weise bereiteten karbunkiosen Milzen zu erzielen; es ist aber klar, daß man bei diesem Prozeß nicht die Rolle, welche der in der infizierten Milz anwesende Milzbrandbacillus spielt, von derjenigen unterscheiden kann, welche den schon normalerweise in der Milz befindlichen Stoffen zukommt, und von derjenigen, welche von den infolge der Milzbrandinfektion in der Milz sich bildenden hypothetischen Stoffen gespielt wird.

Und doch ist als wahrscheinlich anzunehmen — wenigstens bei den langsam verlaufenden Infektionsfällen — daß sich im Organismus, d. h. im befallenen Organ, besondere, von den normalen Stoffen des Gewebes verschiedene Stoffe, unabhängig vom infizierenden Keime und von deren Stoffwechsel- oder Zerfallsprodukte bilden, und daß dieselben auch am Immunisierungsproze  teilnehmen. Auf Produkte solcher Natur schien Behring bei seiner ersten Mitteilung über die Immunisierung gegen die Tuberkulose hinzuweisen, als könne er durch Anwendung von grauen Tuberkeln einen Immunit tszustand gegen Tuberkulose bedingen.

Dies war die Gelegenheit, bei welcher ich mir die Frage stellte, ob in den von einem infektiösen Prozeß befallenen Organen sich tatsächlich neue Stoffe bilden, welche aktiv immunisierende Eigenschaften besitzen.

Wenn z. B. die Milz von einer Karbunkelinfektion befallen ist, können wir annehmen, daß infolge einer Reaktion (mag dieselbe im Sinne von Ehrlich oder auf eine andere Weise aufgefaßt werden) sich Antikörper gegen den Milzbrandbacillus bilden. Augenscheinlich sind diese Antikörper ein Reaktionsprodukt der Elemente des Gewebes, es sind aber nicht zu einer aktiven Immunisierung fähige Substanzen. Höchstens werden sie im stande sein, sich am Bacillus zu fixieren, oder die Phagocytose anzuregen; sie erzeugen aber keine Antikörper. Wenn dies der Fall wäre, würde die Folge nicht ein Immunit tszustand gegen den Keim, sondern eine verminderte Widerstandsfähigkeit sein. Im Sinne von Ehrlich würde man sagen, daß bei einer aktiven Immunisierung mit antibakterischen Ambozeptoren entweder keine Reaktion stattfindet, oder sich Antikörper für die Ambozeptoren bilden; diese Antikörper müssen nun ohne Zweifel den cellularen Rezeptoren des Bakteriums ähnlich, und deshalb im stande sein, die Schutzwirkung des Ambozeptors zu sättigen und zu neutralisieren.

Bilden sich aber in Wirklichkeit während eines infektiösen Prozesses, abgesehen von den bakterischen Antikörpern, in den befallenen Elementen nicht andere Stoffe, welche von den bereits vorhandenen herstammen, aber in der Schutzt tigkeit des Organismus nicht als tote Substanzen anzusehen sind?

Die Frage ist mit den Mitteln der üblichen Technik nicht leicht zu lösen. Wenn wir z. B. zur Prüfung dieser Hypothesen steril gemachte

karbunklöse Milzen Versuchstieren einimpfen, werden immer die bakteriischen Körper und die in dem besonderen Mittel „Milz“ entstandenen Produkte derselben mitwirken, und infolgedessen wird die Möglichkeit der Bildung der erwähnten Substanzen eine fragliche bleiben.

Dasselbe wird man sagen können, wenn es sich um eine tuberkulöse Infektion handelt. Wer z. B. behaupten wollte, daß der graue Tuberkel spezifische immunisierende Eigenschaften (welche natürlich nicht bewiesen sind) besitzt, müßte vorher beweisen, daß diese hypothetischen Eigenschaften nicht dem Tuberkelbacillus und dessen Produkten und auch nicht dem normalen Gewebe für sich zukommen, sondern von neuen, im Zellenprotoplasma unter der besonderen Reizung oder Anregung von den im ganzen als „infektiösen Prozeß“ bezeichneten Vorgängen entstandenen chemischen Verbindungen oder Gruppierungen abhängen.

Bei den experimentellen Versuchen wird aber der Forscher auf eine Schwierigkeit stoßen, die Trennung der Keime und der normalen Zellenstoffe von den erwähnten hypothetischen spezifischen Körpern.

Es besteht jedoch die Vermutung, daß das von mir Angedeutete zum Teil wahr ist, d. h. daß an den Schutzprozessen sich neue, vom Organismus erzeugte Substanzen beteiligen, Substanzen, welche nicht die spezifischen antibakterischen Ambozeptoren sind, aber für sich selbst immunisierende Eigenschaften besitzen.

Forschungen über diese Substanzen dürften vom praktischen Standpunkte aus nicht ohne Interesse sein. So wäre es für die Tuberkulose der Mühe wert, zu forschen, ob die Immunisierung, welche man fast vergebens vom Bacillus oder von den vom Bacillenkörper herstammenden Substanzen zu erhalten gesucht hat, nicht — wie es vor zwei Jahren die Meinung von Ehrlich zu sein schien — mit dem grauen Tuberkel oder mit von Tuberkeln herstammendem Material zu erzeugen sei.

Forschungen in dieser Richtung fehlen bis jetzt. Höchstens könnten als solche die Versuche von Centanni über Autocytoreaktionen¹⁾ betrachtet werden, aus welchen hervorgeht, daß man im Serum der Kranken Autopräzipitine für das befallene Organ nachweisen kann.

Ich habe einige einleitende Forschungen auf diesem Gebiete vorgenommen, und mir dabei folgende Frage gestellt: „Bilden sich in den durch eine Bakterieninvasion veränderten Geweben neue Stoffe, d. h. Stoffe, welche von den vorher bereits bestehenden Substanzen verschieden und von den bakteriischen Substanzen unabhängig sind, und könnten diese neuen Stoffe immunisierende Eigenschaften haben?“

Um diese Frage zu lösen, habe ich Forschungen über die Präzipitine vorgenommen, welche eine Trennung der verschiedenen Gruppen von erzeugten Antikörpern ermöglichen. Natürlich waren zu meinen Zwecken diejenigen Gewebe nicht geeignet, welche von einer rasch verlaufenden Bakterieninfektion befallen wurden, weil es unwahrscheinlich erschien, daß unter der Wirkung einer raschen bakteriischen Invasion sich in kurzer Zeit neue molekulare, mit den alimentären Molekülen vergleichbare Zusammensetzungen, d. h. mit haptophoren Gruppen versehene Stoffe bilden könnten.

Dagegen war der Kochsche Bacillus zu meinen Versuchen sehr geeignet, da der Tuberkel langsam, mit charakteristischen Eigenschaften, entsteht.

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. und Atti dell' accademia dei Fisiocritici. 1906.

Meine Versuche wurden in folgender Weise ausgeführt:

Mit einem Tuberkelbacillus des menschlichen Typus wurden Emulsionen bereitet, in welchen der Keim fein zerrieben wurde, bis man eine homogene Flüssigkeit erhielt, welche lange Zeit auf 60° erhitzt wurde. Mit dieser Flüssigkeit wurden während eines verschiedenen, zwischen 3 und 5 Monaten schwankenden Zeitraumes Kaninchen behandelt. Nach diesen verschiedenen Perioden wurden die Kaninchen dem Aderlaß unterzogen (und dann seziert, um ausschließen zu können, daß sie von Tuberkulose befallen seien, und tatsächlich war dies bei einem Tier der Fall). Das Serum dieser Kaninchen werde ich einfach mit S. Tb. bezeichnen. Einigen anderen Kaninchen wurden die Milzen von normalen Meerschweinchen eingepfht.

Dabei wurde folgendermaßen vorgegangen: Die aus den Tieren entnommenen Milzen wurden mit sterilem Sande zerdrückt und sorgfältig zerrieben, dann in einer physiologischen Lösung suspendiert und zuletzt filtriert. Das Filtrat wurde in verschiedener Dosis Kaninchen eingepfht, deren einige in dieser Weise mehr als 5 Monate lang behandelt wurden. Das Serum dieser Kaninchen werde ich einfach S. M. nennen.

Aus leicht begreiflichen Gründen habe ich bei der weiteren Ausführung meiner Versuche einige dieser Milzinfusionen vor der Einimpfung auf Kaninchen auf 60° erhitzt und das so erhaltene Kaninchenblutserum S. M. 60° genannt.

Endlich habe ich in verschiedenen zeitlichen Zwischenräumen tuberkulöse Meerschweinchen bereitet, indem ich denselben den Tuberkelbacillus des menschlichen Typus einimpfte, mit welchem ich die Kaninchen zur Bereitung des Immunserums S. Tb. geimpft hatte.

Diese Meerschweinchen wurden jedesmal geopfert und zu den Untersuchungen wurden nur diejenigen infizierten Milzen verwendet, welche graue Tuberkel zeigten. Die Milzen wurden in derselben Weise, wie oben angegeben wurde, zerrieben, dann maceriert, filtriert, auf 60°C erhitzt und den Kaninchen eingepfht. Nichtsdestoweniger erkrankten und starben einige Tiere an Tuberkulose, was bewies, daß auch durch eine verlängerte Behandlung mit einer Temperatur von 60° nicht immer die in der Milz vorhandenen Bacillen getötet wurden. Das Serum der so behandelten Kaninchen habe ich S. M. T. genannt.

Zu den Versuchen wurde nur das Serum derjenigen Kaninchen verwendet, welche im Moment des Aderlasses keine bestehende Tuberkulose gezeigt hatten.

Nachdem ich die Sera S. Tb., S. M. und S. M. T. bereitet und mir ein normales Kontrollserum verschafft hatte, machte ich nach einem vorher bestimmten Schema Przipitationsproben mit verschiedenen Mischungen. Es wurde zuerst das Przipitationsvermgen geprüft resp.:

- von S. Tb. auf das Filtrat homologer Tuberkelbacillen;
- von S. M. auf das Filtrat zerriebener normaler homologer Milzen;
- von S. M. T. auf das Filtrat von Tuberkelbacillen, auf dasjenige normaler Milzen, und auf dasjenige von zerriebenen tuberkulösen Meerschweinchenmilzen.

Jedesmal wurden Kontrollversuche mit normalem Serum ausgeführt, welches entweder an Stelle resp. von S. Tb., S. M. und S. M. T. gebraucht wurde, oder mit den drei Immunsera gemischt wurde.

Aus den Kontrollversuchen, welche mit verschiedenen Quantitäten des Immunserums ausgeführt wurden, und bei welchen die przipitier-

baren Filtrate entweder unverändert oder verdünnt gebraucht wurden, konnte ich folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Durch ein Immunserum, gemischt mit dem entsprechenden Filtrat von Tuberkelbacillen, erhält man nicht immer ein deutliches Präzipitat;

2) die für die Meerschweinchenmilz immunen Sera, gemischt mit den homologen Filtraten, geben zuweilen kein Präzipitat, sonst nur ein geringes;

3) das normale Kaninchenserum übt auf die Filtrate von tuberkulösen Kulturen, auf diejenigen von Meerschweinchenmilz oder von tuberkulöser Meerschweinchenmilz keine präzipitierende Wirkung aus;

4) die Mischungen der Immunsera S. Tb. und S. M. T. geben in einer gewissen Zahl von Fällen ein bedeutendes Präzipitat sowohl mit dem Filtrat tuberkulöser Kulturen, wie mit dem Filtrat tuberkulöser Milzen.

Damit dies stattfindet, muß die Behandlung des Kaninchens mehr als 5 Monate dauern (Einimpfung alle 7—10 Tage); unter dieser Grenze habe ich nie ein Immunserum erhalten.

Aus diesen Versuchsergebnissen konnte man in keiner Weise schließen, daß durch Inokulation von Milzen mit Tuberkeln präzipitierende Antikörper erhalten worden waren, welche der besonderen Wirkung der Substanzen des Tuberkels zuzuschreiben wären.

Deshalb habe ich die Methode der Resorption der Präzipitine angewendet, und bin dabei in folgender Weise vorgegangen: Das Serum S. M. T. wurde zuerst mit Filtraten von tuberkulösen Kulturen gemischt (ich verwendete dabei konstante Quantitäten von S. M. T. und verschiedene, zwischen 0,2—0,5 ccm schwankende Quantitäten des Bacillenfiltrats). In einem Teil der Fälle erhielt ich kein Präzipitat, in einem anderen Teil bildete sich dagegen ein solches.

Wo ich kein Präzipitat erhielt, setzte ich meinen Versuch weiter fort, indem ich ein weiteres kleines Quantum desselben S. M. T. anwendete, wo ich dagegen ein Präzipitat erhalten hatte, zentrifugierte ich, entfernte das Präzipitat und nahm die zurückgebliebene Flüssigkeit (Fraktion I). Dann brachte ich diese Flüssigkeit, oder ohne weiteres S. M. T., wenn ich kein Präzipitat erhalten hatte, mit normaler Milz zusammen. In keinem Falle habe ich ein Präzipitat gesehen. Deshalb setzte ich diese Proben nicht weiter fort. Die Fraktionen I wurden dann mit Filtraten von tuberkulösen Milzen zusammengebracht.

Ich habe in dieser Weise 12 Versuche von fraktionierter Präzipitation angestellt. Bei 5 derselben war das Resultat positiv, d. h. es bildete sich in der Mischung ein Präzipitat, welches augenscheinlich als genetisch unabhängig vom Tuberkelbacillus und von der normalen Milz anzusehen war.

Die Kontrollversuche mit normalen Sera oder mit Ersetzung bei den Subtraktionsproben der angegebenen Filtrate durch andere Flüssigkeiten (normales Serum, Filtrat von Tuberkelbacillen an Stelle des Milzfiltrates u. s. w.) haben keine positiven Resultate gegeben.

Deshalb muß ich die Reaktion als eine spezifische ansprechen.

Das bedeutet, daß man dadurch, daß man das Kaninchen mit tuberkulösen Meerschweinchenmilzen immunisiert, welche dem Tier vor der Kaseifikation der Tuberkel entnommen worden sind, die Bildung von Antikörpern erzielen kann, welche spezifisch sind, präzipitieren, sowohl von den vom Bacillus wie von den in Tuberkeln gebildeten Antikörpern differenzierbar sind und auch von den Antikörpern verschieden sind,

welche die normalen Elemente der Meerschweinchenmilz im Kaninchen erzeugen können.

Wenn wir nun unsere Schlußfolgerungen auf ein weiteres Gebiet erstrecken wollten, müßten wir annehmen, daß bei dem tuberkulösen Prozeß in dem Tuberkel nicht nur eine einfache Veränderung des Gewebes mit der Folge einer Nekrose der Elemente stattfindet, sondern daß unter dem Einfluß der Bacilleninvasion sich auch molekulare Zusammensetzungen bilden, welche von den vorher bestehenden verschieden sind und auch gewisse Eigenschaften besitzen, durch welche sie sich auch von den toten Substanzen der nekrotisierenden Prozesse unterscheiden. Es handelt sich mit anderen Worten um molekulare, mit haptophoren Gruppen versehene Komplexe, welche imstande sind, eine aktive Immunisierung in den Organismen zu bewirken, denen sie eingeimpft werden.

Nun fragt es sich, ob man daraus folgern kann, daß eine Immunisierung mit von Tuberkeln herstammendem Material zu versuchen ist; jedenfalls ist sichergestellt, daß sich neue, zur Erzeugung von Antikörpern fähige Substanzen bilden können.

Nachdruck verboten.

Immunisierende Wirkung der normalen Hirnsubstanz verschiedener Tiere und immunisierende, lyssizide und bakterizide Wirkung des Cholesterins und des Lecithins.

[Hygienisches Institut der kgl. Universität Sassari.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **Claudio Fermi**.

A. Immunisierende Wirkung.

Nachdem ich einmal in einer vorhergegangenen Arbeit die immunisierende Wirkung der normalen Hirnsubstanz von Kaninchen, Hunden, Schafen, Ochsen, Ratten u. s. w. gegen die Tollwut nachgewiesen hatte, blieb nur noch übrig, die Hirnsubstanz anderer Tierklassen zu versuchen und festzustellen, welchen dieser verschiedenen Bestandteile der Substanz selbst jene Wirkung zuzuschreiben ist. Unter den verschiedenen Bestandteilen, die meine Aufmerksamkeit auf sich lenken konnten, waren es nach den verschiedenen Albuminoiden des Zellenplasma sicher die Fettstoffe, d. h. Lecithin, Cholesterin, Protagon u. s. w. Die folgende Uebersicht zeigt die von mir angestellten Forschungen:

- 1) Immunisierende Wirkung der Hirnsubstanzen von Truthahn, Huhn und Frosch verglichen mit jener von Kaninchen, Hunden, Lämmern und Ochsen.
- 2) Immunisierende Wirkung des Aetherextraktes der normalen Hirnsubstanz von Ochsen.
- 3) Immunisierende Wirkung der des Aetherextraktes beraubten Hirnsubstanz von Ochsen.
- 4) Immunisierende Wirkung des Cholesterins und Lecithins, einzeln oder untereinander kombiniert angewandt.
- 5) Immunisierende Wirkung organischer Tiersubstanzen mit Lecithin-gehalt (Hühnereigelb und Seros Bioplastina).

In dieser vorläufigen Mitteilung will ich nur die bisher erlangten Resultate mitteilen:

1) Die immunisierende Wirkung der normalen Hirnsubstanz des Truthahns steht jener des Kaninchens, des Hundes, des Schafes und des Ochsen nach, denn mit derselben gelang es mir nur, $\frac{2}{3}$ der vorher mit Straßenvirus infizierten Tiere zu retten.

Die Hühnerhirnsubstanz zeigte sich ebenfalls aller immunisierenden Wirkung beraubt, denn sämtliche mit derselben behandelten Tiere gingen an der Tollwut zu Grunde.

Die immunisierende Wirkung der normalen Froschhirnsubstanz erwies sich als eine sehr schwache, hingegen war sie giftiger als die beiden anderen.

Diese Versuche berechtigen uns also, den Schluß zu ziehen, daß in der immunisierenden Wirkung der normalen Hirnsubstanz ein Unterschied besteht, je nach der Herkunft derselben.

Metschnikoff, Courmont und Doyon fanden etwas Ähnliches in Bezug auf die Tetanustoxine; diesen Verfassern nach wäre die antitoxische Wirkung der Hirnsubstanz der Frösche und Hühner viel geringer, als jene des Pferdes, des Meerschweinchens u. s. w.

2) Das Aetherextrakt der normalen Hirnsubstanz des Ochsen zeigte sich wenig aktiv, hingegen sehr toxisch. Auch dieselbe Hirnsubstanz des Ochsen, welcher der oben genannte Aetherextrakt entzogen worden war, erwies sich fast unwirksam.

3) Das Cholesterin und das Lecithin in ölgiger Emulsion von 5 Proz. gaben auf vorher mit Straßenvirus infizierte Tiere negative oder sehr unsichere Resultate. Es scheint auch, daß sie in dieser Konzentration etwas toxisch sind, denn einige Tiere gingen nach 5—10 Tagen, aber nicht an Tollwut, zu Grunde.

4) Die 1—2-proz. ölige Lecithinemulsion war etwas wirksamer, da sie 3 unter 10 der mit fixem Virus und 7 unter 12 der mit Straßenvirus infizierten Tiere rettete.

5) Noch mehr wirksam erwies sich die Mischung von Cholesterin und Lecithin von 2—5 Proz., denn 4 : 5 (80 Proz.) der mit Straßenvirus und nur 7 : 21 (33 Proz.) der mit fixem Virus infizierten Tiere blieben am Leben.

6) Bei allen vorher mit Straßenvirus infizierten und dann mit einer Emulsion aus Hühnereidotter zu 5 Proz. (eine Substanz, die bekanntlich reich an Lecithin ist) behandelten Tieren fielen die Resultate herrlich aus. In der Tat blieben 7 : 8 (84,5 Proz.) durch Straßenvirus infizierte und mit demselben behandelte Tiere am Leben; dagegen gingen die mit fixem Virus infizierten Tiere alle zu Grunde.

7) Von 4 mit Straßenvirus infizierten und dann mit Eiereiweiß behandelten Tieren blieb nur 1 am Leben.

8) Auch die Bioplastina Seronos, welche bekanntlich mit Eidotter zubereitet wird und deshalb auch sehr reich an Lecithin ist, scheint eine ziemlich gute immunisierende Wirkung zu besitzen. In der Tat wurden 9 von 13 (69 Proz.) mit Straßenvirus infizierten Tieren gerettet, dagegen gingen die mit fixem Virus infizierten Tiere zu Grunde. Alle Kontrolltiere starben ohne Ausnahme an Tollwut.

Im ganzen wurden Versuche an 149 Tieren vorgenommen: 129 dienten für die Versuche mit lipoiden Stoffen. Von diesen 129 starben 38 aus unbekannten Ursachen und 20 dienten zur Kontrolle; von den übrigen mit Fettsubstanzen behandelten 78 Tieren starben 42 an Tollwut, d. h. 53,5 Proz. wurden gerettet.

Um nun die immunisierende Wirkung der verschiedenen Fettsubstanzen untereinander und mit dem Impfstoff (frisches, fixes Virus 5 Proz., Karbolsäure 1 Proz.) vergleichen zu können, führe ich hier den Prozentsatz der am Leben gebliebenen Tiere an:

Vorher mit Straßenvirus sub cuta infizierte Tiere:

1) Impfstoff	Gerettet 100 Proz.
2) Eigelb	" 84,5 "
3) Cholesterin + Lecithin	" 80 "
4) Bioplastin	" 69 "
5) Lecithin	" 58 "
6) Eiereiweiß	" 25 "
7) Cholesterin	" 11 "

Vorher mit fixem Virus sub cuta infizierte Tiere:

1) Impfstoff	Gerettet 0 Proz.
2) Lecithin	" 30 "
3) Antirab. Impfstoff	" 0 "
4) Cholesterin + Lecithin	" 33 "

Aus dieser Tabelle geht hervor:

- 1) daß bei den mit Straßenvirus infizierten Tieren der antirabische Impfstoff wirksamer, als alle versuchten lipoiden Stoffe ist;
- 2) daß bei den mit fixem Virus subkutan infizierten Tieren die lipoiden Stoffe viel wirksamer, als der antirabische Impfstoff sind;
- 3) daß Eigelb (84,5 Proz.) und das Gemisch von Cholesterin und Lecithin (80 Proz.) am wirksamsten sind; dann kommt das Bioplastin (69 Proz.) und das Lecithin (58 Proz.);
- 4) daß Eiereiweiß und Cholesterin die schwächste Wirkung besitzen;
- 5) daß Cholesterin und Lecithin zusammengemischt viel wirksamer als getrennt sind;
- 6) daß Cholesterin und Lecithin getrennt bei 1—2 Proz. viel wirksamer sind als bei 5 Proz., bei welcher Konzentration eine mehr toxische Wirkung als eine immunisierende entfaltet wird.

B. Lyssizide Wirkung.

Dr. M. Almagia unterbreitete kürzlich der Accademia Medica zu Rom ¹⁾ einen seiner Berichte über die Neutralisierung des fixen Virus mittels Cholesterin.

Verf. bereitet Mischungen einer hydro-alkoholischen Emulsion zu 1 Proz., Cholesterin und fixem Virus. Diese Mischung wurde 2—3 Stunden lang einer Temperatur von 37° ausgesetzt, sodann wurden mit derselben 4 Kaninchen sub dura geimpft. Die Tiere blieben alle am Leben, während sämtliche Kontrolltiere zu Grunde gingen.

Ein Jeder wird, falls die Tatsache bestätigt werden wird, dieselbe als eine solche von höchster Bedeutung betrachten. Ich hatte kürzlich Gelegenheit, die Wirkung des Cholesterins und des Lecithins auf frisches Virus in vitro, wie ich dies auch mit zahlreichen anderen chemischen Agentien getan, zu probieren. Um übrigens die Wirkung dieser lipoiden Stoffe unter den gleichen Bedingungen wie die meiner vorigen Versuche zu vergleichen, war ich gezwungen, den Kontakt auf 30 Minuten bei einer Temperatur von 20° einzuschränken. Zu 1 ccm fixen Virus 1:10 mischte ich 0,5 bzw. 1—1,5 ccm Cholesterin, Lecithin, ölige Emulsion

1) Sitzung vom 28. April 1907.

2 $\frac{1}{2}$ Proz. Sämtliche mit $\frac{1}{4}$ ccm der verschiedenen Mischungen sub cute geimpften schwarzen Mäuse (8 an der Zahl) gingen mit den Kontrolltieren an Tollwut zu Grunde.

In einer zweiten Reihe von Versuchen suchte ich mich soviel als möglich den Bedingungen Almagias zu nähern, indem ich nämlich die Mischungen von fixem Virus und Cholesterin, von fixem Virus und Lecithin und von fixem Virus, Lecithin und Cholesterin 3 Stunden lang bei 37° hielt.

Nur um die Gefahr der wut-tötenden Wirkung des Alkohols zu vermeiden, fuhr ich fort, ölige Lösungen, anstatt wie Almagia hydroalkoholische, anzuwenden. Trotzdem war das Resultat, wie oben, negativ. Von 9 Mäusen, an denen ich die Versuche vornahm, wurde keine einzige gerettet; sie gingen alle mit den Kontrolltieren zu Grunde, ohne nicht einmal eine Verspätung in der Inkubationsperiode aufzuweisen.

Obwohl ich übrigens die doppelte Menge von Lecithin und Cholesterin angewandt hatte, indem ich nämlich eine 2-proz. anstatt eine 1-proz. Lösung herstellte, nahm ich dennoch die Versuche mit öligen Emulsionen vor.

Da es nun aber der Fall sein könnte, daß das in hydroalkoholischen Lösungen bereitete Cholesterin aktiver sein könnte, als das in ölicher Lösung bereitete, wiederholte ich den Versuch ohne Alkohol und ohne Oel, indem ich 0,5 g Cholesterin und Lecithin gerade in 3 ccm 1-proz. fixer Virusemulsion emulsiionierte.

Nachdem ein Teil der Mischungen 3 Stunden lang bei 37° C und ein Teil 24 Stunden lang bei 25° C geblieben war, wurden sie more solito an 8 Mäusen geprüft.

Jedoch auch in diesem Falle, bei welchem reines Cholesterin und Lecithin bis zu 17 Proz. (Almagia nur 1 Proz.) angewendet wurde, fiel das Resultat vollständig negativ aus. Ich bin deswegen gezwungen, den Schluß zu ziehen, daß Cholesterin und Lecithin, getrennt wie zusammengemischt, auch in der größten Menge nicht im stande sind, das Wutvirus weder nach 3 Stunden bei 37° C, noch nach 24 Stunden bei 25° C in vitro zu zerstören.

C. Bakterizide Wirkung.

Sodann wollte ich sehen, ob das 2,5-proz. Cholesterin und Lecithin irgend eine bakterientötende Wirkung besäße. Zu diesem Zwecke impfte ich Kapseln von Glycerinagar, die 2,5 Proz. der beiden obenerwähnten Substanzen enthielten; verschiedene Mikroorganismen hatten sich üppig, wie in den Kontrollkapseln, entwickelt. Meine Mikroorganismen waren: *Staphylococcus aureus*, *Micrococcus tetragenus septicus*, *Sarcina lutea*, *Typhusbacillus*, *Bacillus paratyphi*, *Milzbrandbacillus*, *Bacillus subtilis*, *Choleravibrio*, *Vibrio Massaua*, *Diphtheriebacillus*, *Sacch. albus*, *Pen. glaucum*. Eine jede dieser Arten der genannten Mikroorganismen entwickelte sich ziemlich gleichmäßig auf den beiden Fettsubstanzen. Der *Milzbrandbacillus* soll sich im Gegensatz zu *Sarcina lutea*, *Bac. subtilis* und *Bac. paratyphi* besser auf Lecithin als auf Cholesterin entwickeln. Der *Bac. paratyphi* entwickelte sich viel üppiger auf den beiden Substanzen, als der *Typhusbacillus*.

Sassari, 6. Mai 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber Einfluss der Galle, Glykoside und Farbstoffe (Benzidinderivate) auf das Lyssavirus.

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institute in Wien.
Vorstand: Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. M. v. Eisler.

Wenn auch der Erreger der Wutkrankheit noch immer unbekannt ist, so gewinnt doch die Anschauung, welche in der Lyssa eine Protozoenkrankheit sieht, immer mehr an Sicherheit. Namentlich durch die bedeutsame Entdeckung von Negri (1) hat diese Annahme eine wichtige Stütze gewonnen. Trotz der großen Bedeutung der Negrischen Körperchen und ihres unzweifelhaften Wertes für die Diagnose der Lyssa ist ihre Stellung als Erreger der Wut noch zweifelhaft. Wichtige Gründe lassen sich sowohl für als gegen ihre ätiologische Bedeutung vorbringen. Auf diese Frage soll hier nicht näher eingegangen werden. Die im folgenden mitgeteilten Versuche aber können wohl einige neue Anhaltspunkte für die Protozoennatur des Lyssavirus bringen.

1. Ueber den Einfluß der Galle auf das Lyssavirus.

Die ersten Versuche über die Schädigung des Lyssavirus durch Galle rühren von Franzius (2) her. Das Ergebnis dieser Versuche ist kurz folgendes: Franzius stellte zunächst fest, daß die Galle wutkranker Tiere nicht virulent ist und trotz wiederholter subkutaner Injektionen Kaninchen gegen eine darauf folgende subdurale Injektion mit Virus fixe nicht schützt. Ferner injizierte Franzius Gemische von Virus fixe und Galle wutkranker Tiere Kaninchen unter die Dura mater. Diese Kaninchen blieben frei von Lyssa. Mit der Galle gesunder Tiere konnte dieser Autor nicht dieselbe Wirkung erzielen, und nahm daher für die Galle wutkranker Tiere ein Antitoxin an.

Dieses Resultat konnte aber von anderen Autoren nicht bestätigt werden. Denn bereits Vallée (3), der die Versuche von Franzius wieder aufnahm, stellte fest, daß die Galle gesunder Kaninchen genau ebenso wirke wie die wutkranker Tiere und daß selbst 10 Minuten langes Erhitzen auf 110° diese Eigenschaft nicht zerstört.

Vallée nahm daher eine antiseptische und nicht antitoxische Wirkung der Galle an. Bei der subduralen Injektion von Virus fixe-Gallengemischen ging aber die Mehrzahl der Kaninchen unter epileptiformen Krämpfen und Coma innerhalb einiger Minuten bis zu 48 Stunden zu Grunde. Diese Giftwirkung der Galle wurde zuerst von Biedl und Kraus (4) beschrieben. Vallée injizierte daher, um diese Zufälle zu vermeiden, intraokulär. Nun gibt aber die intraokuläre Impfung mit Virus fixe bei Kaninchen unsichere Resultate und ist daher diese von Vallée gebrauchte Methode nicht geeignet gewesen, die vorliegende Frage einwandfrei zu entscheiden.

Bei subduraler Injektion von Virus fixe-Galle stört die Giftwirkung der Galle den Verlauf des Versuches, die intraokuläre Injektion aber gibt unsichere Resultate. Diese beiden Einwände wurden von Kraus (5), der die Wirkung der Galle auf das Lyssavirus einer neuerlichen experimentellen Prüfung unterzog, gegen die Arbeiten von Vallée und

Franzius erhoben. Kraus erhielt bei seinen eigenen Versuchen mit intraokulärer Impfung nur bei 45 Proz. positive Impfresultate. Um die Giftwirkung der Galle bei subduraler Injektion auszuschalten, ging Kraus so vor, daß er aus den Mischungen von Virus fixe und Galle, nachdem diese einige Zeit gestanden hatten, das Virus abzentrifugierte und die darüber stehende Galle abhob. Zur gänzlichen Entfernung der Galle wurde das Virus noch vorsichtig mit Kochsalzlösung gewaschen, dann in etwas Kochsalz verrieben und subdural injiziert. Auf diese Weise erhielt Kraus sehr gute Resultate und konnte in einwandsfreier Weise die lyssaschädigende Wirkung der Galle feststellen. Diese Versuche von Kraus wurden mit normaler Kaninchengalle gemacht.

Zu erwähnen wären auch noch Versuche von Salomon (6), welcher ebenfalls den schädigenden Einfluß der Galle auf das Virus der Hundswut feststellen konnte.

Da also durch die angeführten Versuche die Wirkung der Galle auf das Lyssavirus ohne Zweifel feststand, schien es mir von Interesse, zu untersuchen, welchem Bestandteil der Galle diese Eigenschaft zukommt, namentlich da nach den Versuchen von Vallée (3) auch durch Erhitzen auf 110° das rabizide Vermögen der Galle nicht aufgehoben wird. Während ich mit diesen Untersuchungen beschäftigt war, wurden Versuche über dieselbe Frage von Lessier (7) veröffentlicht. In diesen Versuchen wurde zunächst die abtötende Wirkung der Galle von Mensch, Hund und Hammel, und zwar sowohl der normalen als auch der von Wutkranken bestätigt.

Dieselbe Wirkung wie die Galle hatten aber auch die gallensauren Salze allein, sowohl die glyko- als die taurocholsauren. Wegen der Giftigkeit der Galle bei subduraler Injektion verwendete Lessier die intraokuläre Impfung. Deswegen verlieren seine Versuche an Beweiskraft, und es muß, da es sich um Virus fixe handelt, der bereits von Kraus gegen Vallée erhobene Einwand wiederholt werden.

In meinen eigenen Versuchen benutzte ich ausschließlich Rinder-galle. Die frische Galle wurde mit dem 4—5-fachen Volumen absoluten Alkohols versetzt, daß hierbei ausfallende Nucleoalbumin abzentrifugiert und der Niederschlag nach Abgießen des Alkohols rasch getrocknet und in einem der Gallenmenge entsprechenden Volumen physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen. Aus einer anderen Portion derselben Galle wurden nach dem bekannten Plattnerschen Verfahren die gallensauren Salze dargestellt. Durch wiederholtes Lösen in Alkohol und Fällung mit Aether wurde der die Salze enthaltende Niederschlag gereinigt und hierauf wieder in der entsprechenden Menge Kochsalzlösung aufgelöst. Durch Abdampfen des Alkohols wurde auch das in diesem gelöste Cholesterin und Lecithin, ferner die Seifen und Fette erhalten. Dieser Rückstand wurde ebenfalls in Kochsalz emulsiert. Jeder dieser drei Gallenbestandteile, das Eiweiß, die Fette und die Salze wurden nun getrennt bezüglich ihrer Wirkung auf das Lyssavirus untersucht. Zu diesem Zwecke wurden Kochsalzaufschwemmungen von Virus fixe im Verhältnis 1 : 10 durch Papier filtriert und abgemessene Mengen dieser Aufschwemmung mit den gleichen Volumina der drei früher genannten Gallenbestandteile versetzt. Als Kontrolle wurde eine abgemessene Virusmenge mit der gleichen Menge Kochsalzlösung versetzt. Die Mischungen blieben 1 Stunde bei Zimmertemperatur. Dann wurde nach dem Vorgange von Kraus das Virus abzentrifugiert und mit Kochsalzlösung wieder verrieben. Das in solcher Weise vorbehandelte Virus wurde Kaninchen

subdural injiziert. Dabei zeigte sich, daß das Eiweiß und die Lipoiden der Galle ohne Einfluß auf das Virus waren, d. h. daß das mit diesen Substanzen vorbehandelte Virus ebenso wie das Kontrollvirus typische Lyssa erzeugte, daß dagegen das mit den gallensauren Salzen gemischte Virus seine Infektiosität vollständig eingebüßt hatte.

Versuch am 25. November 1906.

Kaninchen No. 370, 371, Kontrolle 1 ccm Virus + 1 ccm NaCl. Lyssa am 2. Dezember, gestorben am 5. Dezember.

Kaninchen No. 84, 130, 132, 421, 2 ccm Virus + 2 ccm Galleneiweiß. No. 130 gestorben am 28. Nov. No. 84 Lyssa 1. Dez., gestorben 4. Dez. No. 132 Lyssa 2. Dez., gestorben 4. Dez. No. 421 Lyssa 3. Dez., gestorben 5. Dez.

Kaninchen No. 355, 358, 364, 397, 2 ccm Virus + 2 ccm Lipoiden. No. 364 gestorben 27. Nov. No. 358 gestorben 28. Nov. No. 355 2. Dez. Lyssa, gestorben 5. Dez. No. 397 Lyssa 3. Dez., gestorben 6. Dez.

Kaninchen No. 398, 399, 45, 82. No. 45 gestorben 30. Dez. ohne Lyssa. No. 398, 399, 82 gesund am 20. Dez.

Solche Versuche wurden mit demselben Resultate mehrere Male wiederholt. Immer blieben die Kaninchen, welche mit Mischungen des Virus fixe und Gallensalzen injiziert worden waren, von Lyssa verschont, die übrigen Gallenbestandteile waren ohne Einfluß auf das Virus.

2. Wirkung des Saponins.

Bei ihren Untersuchungen über Hühnerpest haben Landsteiner (8) und Russ (9) in dem Saponin ein sehr wirksames Gift gegen dieses Virus gefunden. Trotz der enormen Empfänglichkeit der Hühner für diese Erkrankung blieben sämtliche Tiere, welche mit Gemischen des Virus und Saponin injiziert wurden, am Leben. Da das Saponin nach Versuchen von Russ (9) auch auf *Trypanosoma Lewisii* giftig wirkt, indem es ihre Beweglichkeit sistiert, war es naheliegend, die Wirkung des Saponins auch auf das Lyssavirus zu prüfen.

Zu diesen Versuchen wurde Virus fixe im Verhältnisse 1 : 10 in physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt und durch Papier filtriert. Vom Saponin (Merck) wurden in Kochsalz 1-proz. und 0,5-proz. Lösungen gemacht. Gleiche Volumina Virusaufschwemmungen und Saponinlösungen wurden 4—6 Stunden lang bei Zimmertemperatur gehalten. Als Kontrolle wurde immer Virus mit der dem Saponin entsprechenden Menge Kochsalzlösung versetzt und ebenfalls 4—6 Stunden bei Zimmertemperatur gehalten. Nach dieser Zeit wurden Kaninchen subdural injiziert.

Versuch am 3. Januar 1907.

Kaninchen No. 427, 343, 1 ccm Vir. fixe 1 : 10 + 1 ccm NaCl. Lyssa 10. Jan., gestorben 12. Jan.

Kaninchen No. 428, 473, 423, 355, 1 ccm Vir. fixe 1 : 10 + 1 ccm 1-proz. Saponinlösung. No. 473 gestorben am 5. Jan. No. 428, 423, 355 gesund am 26. Jan.

Versuch am 6. Februar 1907.

Kaninchen No. 90, 40, 1 ccm Vir. fixe 1 : 10 + 1 ccm NaCl. Lyssa 13. Febr., gestorben 15. Febr.

Kaninchen No. 34, 67, 50, 480, 1 ccm Vir. fixe 1 : 10 + 1 ccm 0,5-proz. Saponinlösung. No. 50 gestorben am 10. Febr. No. 67 gestorb. 18 Febr. ohne Lyssa. No. 34, 480 gesund 28. Febr.

Bekanntlich kommt dem Saponin in hohem Grade die Eigenschaft zu, rote Blutkörperchen aufzulösen und läßt sich, wie Hausmann (10) zeigte, diese Wirkung durch Cholesterin aufheben. Nachdem nun, wie in den beiden vorher angeführten Versuchen gezeigt wurde, der lyssaschädigende Einfluß des Saponins festgestellt war, ging ich daran, zu untersuchen, ob sich auch diese Wirkung des Saponins durch Cholesterin neutralisieren lasse. 0,02 g Cholesterin wurden in ca. 5 ccm Aether gelöst und diese ätherische Lösung zu 0,01 g Saponin hinzugesetzt. Nach 24-stündigem Aufenthalte bei Zimmertemperatur wurde der Aether abgedampft und der Rückstand in 1 ccm Kochsalzlösung aufgenommen. Eine derartig vorbehandelte Saponinlösung war auch in großen Mengen nicht mehr im stande, Blutkörperchen aufzulösen. 2 ccm einer mit Cholesterin in der angegebenen Weise digerierten 1-proz. Saponinlösung wurden mit 2 ccm Virus fixe-Aufschwemmung 1 : 10, die vorher durch Papier filtriert worden war, versetzt und 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen. Diese Mischung wurde hierauf Kaninchen subdural injiziert. Diese Tiere erkrankten mit typischen Lyssasymptomen. Die schädigende Wirkung des Saponins auf das Lyssavirus war somit durch das Cholesterin aufgehoben. In früheren Versuchen hatte ich mich bereits davon überzeugt, daß eine 24-stündige Vorbehandlung des Saponins mit Aether ohne Cholesterin die Wirkung dieses Giftes auf das Lyssavirus nicht beeinträchtigt.

Versuch am 29. März 1907.

Kaninchen No. 474, 473, 477, 479, 476, 438. No. 474 gestorben 4. April ohne Lyssa. No. 473 Lyssa 8. April, gestorben 11. April. No. 477, 479 Lyssa 9. April, gestorben 12. April. No. 476 Lyssa 9. April, gestorben 10. April. No. 438 gestorben 1. April.

Die Giftwirkung des Saponins kam auch bei Infektion mit Straßenvirus zum Ausdrucke. Vom Gehirn eines wutkranken Hundes wurde intraokulär auf Kaninchen überimpft, und das Gehirn eines solchen an Wut verendeten Kaninchens zu den Versuchen verwendet. Die Versuchsanordnung war die gleiche wie bei Virus fixe.

Versuch am 27. April.

Kaninchen No. 480, 478, 69, 1 ccm Virus 1 : 10 + 1 ccm NaCl. No. 480 Lyssa 14. Mai, gestorben 16. Mai. No. 478 gestorben 13. April ohne deutliche Lyssa. No. 69 Lyssa 17. Mai, gestorben 20. Mai.

Kaninchen No. 479, 443, 485, 63, 1 ccm Virus 1 : 10 + 1 ccm 1-proz. Saponinlösung. No. 479 gestorben 2. Mai. No. 443, 485, 63 gesund am 27. Mai.

3. Wirkung des Solanins.

Außer dem Saponin wurde auch das diesem so nahestehende Glykosid Solanin in Bezug auf lyssaschädigende Eigenschaften untersucht. Das Resultat war ein ähnliches wie beim Saponin. Die Wirkung war aber nicht ganz so konstant wie bei diesem. Der Grund dafür dürfte wohl darin zu suchen sein, daß das Solanin zum Unterschied von Saponin, das sehr gut wasserlöslich ist, sich in der Kochsalzlösung nur sehr schlecht löst. Dieser Umstand ist natürlich für die Wirkung auf das Virus von großer Bedeutung. Zu den Versuchen wurde Solanin. puriss. von Merck im Verhältnis 1 : 10 im Kochsalz aufgeschwemmt. Das Virus wurde ebenfalls 1 : 10 verdünnt und durch Papier filtriert. Die Versuchsanordnung war ganz gleich, wie die für das Saponin beschriebene.

Versuch am 16. Februar 1907.

Kaninchen No. 490, 483, 385, 1 ccm Vir. fixe + 1 ccm NaCl. No. 385 gestorben am 20. Febr. No. 490, 483 Lyssa am 23. Febr., gest. 25. Febr.

Kaninchen No. 486, 479, 478, 182, 1 ccm Vir. fixe + 1 ccm 1-proz. Solanin. No. 486 gestorben am 19. Febr. No. 479, 478, 182 gesund am 10. März.

4. Einige andere Gifte und Farbstoffe bezüglich ihres Verhaltens zum Lyssavirus.

Im Anschlusse an die Versuche über die Vernichtung des Lyssavirus durch Galle, Solanin und Saponin mögen auch noch kurz einige andere Versuche mit negativem Erfolge angeführt werden. Es wurde zunächst die Wirkung eines bakteriellen Toxins, nämlich des Giftes der El Tor-Vibrionen, welches bei Kaninchen, intravenös injiziert, bekanntlich akuten Tod herbeiführt, untersucht. In einer anderen Versuchsreihe wurde Wasserstoffsuperoxyd in 2-proz. Lösung mit dem Virus gemischt. Beide Stoffe waren ohne jeden Einfluß auf das Lyssavirus. Ferner wurde eine Reihe von Farbstoffen, die sich bei Trypanosomeninfektionen als wirksam erwiesen hatten und das in letzter Zeit gegen Protozoenkrankheiten vielfach mit Erfolg verwendete Atoxyl untersucht. Von Farbstoffen wurden Trypanrot und dann die von Mesnil und Nicolle (11) gegen Trypanosomen als besonders gut empfohlene o. Dichlorobenzidin und o. Tolidin geprüft, für deren freundliche Ueberlassung ich den Farbenfabriken von F. Bayer u. Co. in Elberfeld zu Dank verpflichtet bin. Alle die genannten Substanzen erwiesen sich, auch wenn sie gleich nach der subduralen Infektion mit Virus fixe injiziert worden waren, als unfähig, den Ausbruch der Lyssa zu verhindern oder selbst nur zu verzögern. Bei Mischung des Virus fixe mit den genannten Benzidinfarbstoffen war zuweilen eine geringe Verzögerung gegenüber den Kontrolltieren zu konstatieren. Das Versagen dieser bei Trypanosomenkrankungen wirksamen Stoffe gegen das Lyssavirus kann nicht überraschen, da ja selbst schon für die einzelnen Trypanosomenarten nicht unbeträchtliche Unterschiede in der Wirksamkeit dieser Stoffe bestehen. So berichten schon Ehrlich und Shiga (12) in ihrer Arbeit über das Trypanrot, daß sie mit diesem Farbstoff bei Naganainfektionen viel weniger günstige Resultate erzielten als bei Mal de Caderas.

5. Immunisierungsversuche.

Auch bei der Lyssa war man bemüht, eine Schutzimpfung mit nicht mehr infektiösem oder wenigstens abgeschwächtem Material durchzuführen. Wenn es sich auch bei der Pasteurschen Methode der Austrocknung augenscheinlich nicht um eine Virulenzabschwächung, sondern um eine Verminderung der Zahl der Erreger handelt, so wurde durch die italienische Schutzimpfungsmethode von Tizzoni und Centanni (13) — Verdauung des Virus mit Magensaft — eine sichere Abschwächung erzielt. Mit gar nicht mehr infektiösem Material hat Marie (14) einen gewissen Impfschutz erzielt. Er machte Mischungen von Virus fixe und rabizidem Serum, deren Neutralisation durch subdurale Injektion geprüft wurde. Nach 24-stündigem Stehenlassen der Gemische wurde das überschüssige Serum durch Waschen entfernt und der Gehirnbrei subkutan oder intraperitoneal Meerschweinchen und Kaninchen injiziert. Durch eine derartige Injektion konnte nach Marie Immunität gegen intra-

okuläre Infektion mit *Virus fixe* oder Straßenvirus erzielt werden und zwar sowohl wenn die Infektion am Tage der Injektion oder mehrere Tage oder Monate später erfolgte. Diese Immunität war aber wohl nur eine begrenzte, denn bei subduraler Injektion gingen die Tiere trotz der Impfung an Lyssa zu Grunde.

Auch meine Versuche, Kaninchen für eine subdurale Impfung mit *Virus fixe* immun zu machen, sind gescheitert. Ich hatte Kaninchen subdural mit neutralen Gemischen von *Virus fixe* und rabizidem Serum, ferner von Virus und Galle oder Saponin subdural geimpft. 14–20 Tage später wurde denselben Tieren *Virus fixe* wieder subdural injiziert. Alle diese Tiere erkrankten nach 7–9 Tagen an Lyssa; nur in einem Versuche waren mit Saponinvirus geimpfte Tiere gegen nachträgliche Injektion von *Virus fixe* immun. Auch Lessier (7) hat in seiner Arbeit mitgeteilt, daß die mit Galle und *Virus fixe* injizierten Tiere keine Immunität erlangt haben.

Dagegen ist es mir gelungen, durch subkutane Injektionen von neutralen Saponin-Virusgemischen bei Kaninchen ein rabizides Serum zu erhalten. Durch Papier filtriertes Virus mit Kochsalzlösung im Verhältnis 1:10 verdünnt, wurde mit der gleichen Menge 1-proz. Saponinlösung 6 Stunden bei Zimmertemperatur stehen gelassen und dann das überschüssige Saponin durch Zentrifugieren entfernt. Der abzentrifugierte Gehirnbrei wurde in Kochsalzlösung verrieben und Kaninchen subkutan injiziert. Die Tiere erhielten im ganzen ca. 30 ccm einer 5-proz. Gehirnaufschwemmung. 10 Tage nach der letzten Injektion wurde ein Aderlaß gemacht.

Zur Bestimmung des rabiziden Vermögens der Sera wurde die von Kraus, Keller und Clairmont (15) angewandte Versuchsanordnung benutzt. Es wurden also Kochsalzaufschwemmungen des Virus im Verhältnis 1:100 durch Papier filtriert und je 1 ccm dieses Virus mit verschiedenen Mengen der Sera versetzt. Die Gemische blieben 24 Stunden bei Zimmertemperatur und wurde dann subdural Kaninchen injiziert. Wie wir aus den oben zitierten Versuchen von Kraus und seinen Mitarbeitern wissen, ist normales Kaninchenserum auch in der Menge von 0,5 ccm nicht im stande, 1 ccm Virusaufschwemmung 1:100 zu neutralisieren. Die neutralisierenden Werte meiner Kaninchenimmunsera bewegten sich zwischen 0,1 und 0,01 ccm, enthielten also zweifellos rabizide Substanzen.

Die positiven Ergebnisse der eben angeführten Versuche zeigen also, daß sowohl die Galle resp. die gallensauren Salze als auch das Saponin und das Solanin das Vermögen besitzen, das Lyssavirus zu schädigen. Diese Stoffe müssen aber als Zell- resp. Protozoengifte angesprochen werden; eine Wirkung auf Bakterien kommt ihnen kaum zu. Ueber das Verhalten der Galle zu Bakterien liegen Versuche vor, die ergeben haben, daß der Galle kein bakterizides Vermögen zukommt. Eine Ausnahme in dieser Beziehung besteht bloß für den *Diplococcus pneumoniae*. Solche Versuche wurden gemacht von Leubuscher (16), Fraenkel und Krause (17) sowie Neufeld (18). Von Fraenkel und Krause (17) wurde die Wirkung der Galle auf eine größere Anzahl von Bakterien geprüft. *Bacterium typhi coli*, *Staphylokokken*, *V. cholerae* zeigten in der Galle sogar Wachstum, ebenso *Pyocyaneus*, *Streptokokken* blieben in der Galle lange Zeit lebensfähig, *Diphtheriebacillen* bis zu 9 Tagen. Nur die Kulturen des *Diplococcus pneumoniae* waren nach 24–48 Stunden abestorben. Nun

sind ja aber die Kulturen des *Diplococcus pneumoniae* schon an und für sich sehr häufig. Ganz ähnliche Resultate erhielten auch die beiden anderen Autoren.

Ebenso haben Versuche von Russ (9) mit 1-proz. Saponinlösungen und einer Reihe von Bakterien (*V. cholerae*, *B. typhi*, *B. anthracis*, *Staphylococcus*, *Meningococcus* und einer Hefeart) selbst nach 24 Stunden langer Einwirkung gezeigt, daß dem Saponin keine bakteriziden Eigenschaften zukommen.

Dagegen wissen wir wohl, daß sowohl die Galle wie das Saponin eine ausgesprochene Giftwirkung nicht nur auf die verschiedenen Zellen höherer Organismen, sondern auch auf einzellige Organismen (Trypanosomen etc.) besitzen, und dürfen daher wohl aus der Beeinflussung des Lyssavirus durch diese Substanzen auf eine nicht bakterielle Natur desselben schließen.

Literatur.

- 1) Zeitschr. f. Hyg. 1903.
- 2) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIII. 1898.
- 3) Annal. de l'inst. Pasteur. 1899. p. 506.
- 4) Centralbl. f. interne Med. 1898.
- 5) Zeitschr. f. Hyg. 1900.
- 6) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. 1900.
- 7) C. r. de la soc. de biol. 1906.
- 8) Centralbl. f. Bakt. Ref. 1906.
- 9) Archiv f. Hyg. Bd. LIX.
- 10) Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. 1905.
- 11) Annal. d. l'inst. Pasteur 1906.
- 12) Berl. klin. Wochenschr. 1904.
- 13) Centralbl. f. Bakt. Bd. XVIII. 1895.
- 14) C. r. de la soc. de biol. 1902. p. 1364.
- 15) Zeitschr. f. Hyg. 1902.
- 16) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XVII.
- 17) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXII.
- 18) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV.

Nachdruck verboten.

Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitee.]

Von

Dr. R. Doerr, und **Dr. H. Raubitschek,**
Regimentsarzt. Oberarzt.

In einer vorläufigen Mitteilung (1) sind wir für ein neues, von den Amerikanern Evans und Russel (2) angegebenes, außerordentlich einfaches Verfahren der Raundesinfektion mit Formaldehyd eingetreten, welches darauf beruht, daß beim Uebergießen von Kaliumpermanganat mit der doppelten Menge käuflichen Formalins eine stürmische Entwicklung von wasserhaltigen Formaldehyddämpfen stattfindet. Durch gewisse Modifikationen der ursprünglichen Vorschrift gelang es, den desinfektorischen Wert des Verfahrens derart zu steigern, daß es den besten der gebräuchlichen Formalinmethoden in dieser Hinsicht mindestens ebenbürtig an die Seite gestellt werden kann. Die experimentellen Belege

hierfür sollen an dieser Stelle ausführlicher besprochen werden. Zuvor seien jedoch einige Bemerkungen gestattet, um das Verhältnis des neuen Verfahrens zu der bisherigen Desinfektionspraxis genauer zu präzisieren.

Die Evans-Russelsche Methode resp. die von uns vorgeschlagene Verbesserung derselben teilt mit allen Formalinverfahren den Nachteil einer reinen Oberflächendesinfektion, und ist daher ebensowenig wie diese im stande, die Anwendung des strömenden Wasserdampfes oder chemischer Desinfizienten entbehrlich zu machen. Unser Verfahren kann in den meisten Fällen auch nur einen Faktor der allgemeinen Schlußdesinfektion verseuchter Wohnräume bilden, deren exakte Durchführung nach wie vor einem geschulten, unter ärztlicher Kontrolle arbeitenden Personal überlassen bleiben soll.

Wir plaidieren auch keineswegs für die Abschaffung der in Spitälern, größeren Städten etc. bereits eingebürgerten, bewährten und hinsichtlich ihrer Leistungsfähigkeit vielfach wissenschaftlich geprüften Apparate, wie solche z. B. von Flügge (3), Proskauer (4), Prausnitz (5), Czaplewski (6), Lingner (7), Tursfield (8) u. A. angegeben wurden. Wo derartige Apparate vorhanden sind, wo ausgebildete, mit ihrer Handhabung vertraute Desinfektoren zur Verfügung stehen, liegt kein Grund vor, sich eines neuen Verfahrens zu bedienen.

Man wird aber bei einiger Objektivität eingestehen müssen, daß diese Vorbedingungen eben nicht immer erfüllt sind, wie z. B. in kleineren Städten, auf dem Lande, wo Apparate und Desinfektoren meist fehlen, trotzdem gerade für solche Fälle eine Raumdesinfektion oft dringend notwendig wäre; haben doch die Untersuchungen Kochs und seiner Schüler gelehrt, welche Ausbreitung unsere endemischen Seuchen in ländlichen Distrikten gewinnen und wie das Dorf geradezu die Infektionsquelle der größeren Städte bildet. Es liegt nun in der Natur der Sache, daß die Formalinapparate für solche Verhältnisse keine Anwendung finden können und auch in Zukunft sich nicht einbürgern werden. Die ländliche Bevölkerung sträubt sich aus Indolenz und mangelhaftem Verständnis für die Forderungen der Hygiene ohnedies gegen die Vornahme einer Wohnungsdesinfektion; treten solche Schwierigkeiten wie die Beschaffung eines kostspieligen Apparates, schwierige Handhabung desselben unter Zuhilfenahme von langen Gebrauchsanweisungen und Tabellen, Zimmerabdichtung, Feuergefahr etc. hinzu, so wird sicher nicht desinfiziert und auch der Arzt würde den Widerstand seiner Klientel gegen derartige umständliche, kostspielige und gefährliche Prozeduren wohl kaum überwinden. Hier hat nur das Aller-einfachste Aussicht auf Erfolg.

Die Anwendbarkeit der Formalinapparate ist aber auch weiter eingeschränkt durch die Dimensionen und die Zahl der zu desinfizierenden Objekte. Für kleine Räume, wie Krankenwagen, Waggonen, Kisten, Schränke oder in letzteren untergebrachte Gegenstände, welche die Dampfdesinfektion nicht vertragen, z. B. Pelzwerk, Ledersachen, sind sie nicht brauchbar.

Große Räume, Krankensäle, Wartehallen, Schulzimmer, Kasernenräume benötigen wieder mehrere Apparate, da jeder einzelne nur eine bestimmte Menge des Desinficiens zu verdampfen vermag. Nicht überall wird es aber möglich sein, eine größere Zahl von Apparaten anzuschaffen oder auszuleihen; in solchen Fällen hat man sich eben bisher, wie die Praxis lehrt, mit der Verwendung des vorhandenen Modells, d. h. mit einer ungenügenden Desinfektion begnügt. Derselben Schwierigkeit

begegnet die Forderung, zahlreiche Zimmer auf einmal mit Formaldehyd zu behandeln; die Räume einfach abzusperren und bis zur vollendeten Desinfektion dem Gebrauch zu entziehen, ist manchmal aus äußeren Gründen direkt unmöglich.

Schließlich leidet jedes Apparatverfahren an einer gewissen Umständlichkeit, und es wäre wünschenswert, wie Tomarkin und Heller (9) mit Recht betonen, auch den geschulten Desinfektoren größerer Städte Zeit und Arbeit durch eine Vereinfachung der Formalindesinfektion zu ersparen.

Auf die Feuergefährlichkeit der Apparate, bei welchen ja größere Mengen von brennendem Spiritus sich selbst überlassen werden müssen, ist auch vielfach hingewiesen worden. Wir möchten indes auf diesen Punkt kein allzu großes Gewicht legen. Wie die Erfahrung lehrt, kommen Explosionen oder Brände fast nie vor und sind stets durch eine besondere Nachlässigkeit der Bedienungsmannschaft verschuldet. Betraut man zuverlässige Leute mit der Desinfektion, so können diese Eventualitäten wohl ausgeschlossen werden. Immerhin können ja besondere Verhältnisse, Wert des Desinfektionsgutes, Feuergefährlichkeit der Objekte, Anhäufung von Explosionsstoffen in der Nachbarschaft, die Garantie absoluter Sicherheit verlangen, und dann wäre natürlich ein Verfahren auf kaltem Wege das einzig zulässige.

Für militärische Verhältnisse, besonders für das Feld und die Manöver, sind die Apparatmethoden nicht verwendbar, da das Mitführen der Apparate umständlich, der Transport größerer Quantitäten flüssigen Formalins undurchführbar ist. Pfuhl (10) hat deshalb vorgeschlagen, den Breslauer Apparat mit der erforderlichen Menge Wasser zu füllen und in dieses Paraformpastillen in entsprechender Zahl zu werfen. Diese lösen sich im Wasser auf und gehen beim Erhitzen in flüssiges Formalin über, welches dann in verdünntem Zustande verdampft wird. Diese Kriegsmethode nach Pfuhl erheischt aber noch immer einen Apparat, erfordert eine exakte Abdichtung der Räume, was im Felde kaum durchführbar sein dürfte, und ist auch ziemlich teuer.

Alle diese Mängel der Apparate hat man wohl schon früher erkannt und versucht, die Vorzüge der Formalindesinfektion durch einfachere Methoden zu erreichen [Krell (11), Dieudonné (12), Reischauer (13), Steinitz (14), Springfeld (15) u. A.]; diese Neuerungen fanden aber keinen rechten Anklang, da sie zwar den Apparat ausschalteten, aber noch recht umständlich und nichts allorts anwendbar waren.

Anders liegt die Sache beim Autan. Es ist kaum ein Jahr verflossen, seit Eichengrün (16) das Mittel als Ersatz der bisherigen Formalinmethoden empfahl, und trotz dieser kurzen Zeit existiert bereits eine ganze Reihe von gründlichen Arbeiten über die praktische Verwendbarkeit und den desinfektorischen Effekt der Autanmethode. Darin liegt allein schon die Anerkennung, daß keines der bestehenden Apparatverfahren allen Anforderungen einer allgemein zugänglichen Desinfektionsmethode entsprach und daß die große Einfachheit der Autandesinfektion für alle Fachleute auf diesem Gebiete die Bedeutung eines prinzipiellen Fortschrittes hatte. Das wird ja auch von den Gegnern des Autans bereitwillig zugestanden [Hammerl (17), Christian (18)].

Im Vordergrund des Interesses stand natürlich zunächst die Frage, ob die Abtötung der Keime beim Autanverfahren ebenso sicher und in dem Ausmaße erfolge, wie bei der Verdampfung oder Verspraying von Formalinwassergemengen. Die ersten Arbeiten brachten in dieser Richtung

nur günstige Resultate: Wesenberg (19), Selter (20), Tomarkin und Heller, Nietner (21), Kolle (22), Carbonel y Soles (23), Lemaire (24), Sternberg (25) u. A. m. sprachen sich durchweg sehr lobend aus. Sie benutzten dabei die von der Firma angegebenen Mengen des Präparates und hatten vielfach auch dann gute desinfektorische Wirkungen zu verzeichnen, wenn sie die betreffenden Räume nicht abdichteten (Wesenberg, Sternberg, Tomarkin und Heller), obzwar dieser Punkt gleich anfangs nicht unwidersprochen blieb (Nietner).

Kirstein (26) allein war von seinen Ergebnissen nicht befriedigt, nach Tomarkin und Heller aus dem Grunde, weil er eine ältere, jetzt nicht mehr zur Ausgabe gelangende Type des Präparates benutzte.

In letzter Zeit mehrten sich jedoch die ungünstigen Berichte. Xylander (27) mußte die zu desinfizierenden Räume nicht nur vollkommen abdichten, sondern auch wesentlich höhere Autanmengen verwenden (50 g pro Kubikmeter), um die Leistungsfähigkeit der Methode auf die von den Apparaten erreichte Höhe zu bringen. Das hat übrigens schon Selter getan. Auch Christian und Hammerl fanden, daß mit den von der Firma (Bayer & Co.) angegebenen Mengen die Keimabtötung recht unvollkommen blieb.

Diese auffallenden Widersprüche bedürfen einer Erklärung. Zum Teil werden sie wohl auf der differenten Versuchstechnik beruhen. Abgesehen von der verschiedenen Resistenz der Teststämme, die sich kaum vermeiden läßt, benutzt, wie bekannt, fast jeder Autor ein anderes Prüfungsverfahren, modifiziert Zahl und Art der ausgelegten Proben, hüllt sie in Papierkapseln, dann in Tücher, in Decken u. dergl. ein, exponiert sie bald in kleinen, bald in großen Räumen u. s. f. Durch ein solches Vorgehen wird der Vergleich der Versuchsergebnisse enorm erschwert und kann hier wohl nur die Feststellung eines einheitlichen Prüfungsregulativs Abhilfe schaffen. Aber selbst bei Berücksichtigung aller dieser Fehlerquellen bleiben noch immer ganz bedeutende Unterschiede in den Resultaten bestehen, die z. B. Wesenberg oder Tomarkin und Heller einerseits, Xylander und Hammerl andererseits registrieren.

Wir haben gleich in unserer ersten Mitteilung versucht, die Gründe für diese Erscheinung klarzulegen, und befinden uns, wie die kurz nachher erschienene Arbeit von Hammerl beweist, in Uebereinstimmung mit anderen Autoren. Das Autan scheint nicht immer die gleiche Zusammensetzung zu haben. Hammerl gibt an, „daß die Entwicklung der Formaldehyd- und Wasserdämpfe unter sonst ganz gleichen äußeren Bedingungen nicht immer in derselben Weise vor sich geht“. Er glaubt allerdings, daß die Ursache in der schlechten Wärmeleitung der Gefäße liegen könne, in welchen man die Reaktion anstellt, indem beispielsweise bei dicken Holzbottichen zu viel Wärme durch Miterhitzung des Gefäßes verloren geht, so daß die Verdampfung nicht nur verzögert wird, sondern auch unvollständig bleibt. Xylander, der stets einen sehr stürmischen Ablauf der Reaktion sah, hat in der Tat mit Emailletöpfen gearbeitet und das Autan überdies mit heißem Wasser übergossen.

Die Entwicklung des Formaldehydwassernebels blieb aber uns selbst zweimal überhaupt aus oder war nicht nennenswert; vielleicht hatten wir wie Kirstein die ältere, schlechtere Type. Jedenfalls muß zugegeben werden, daß das Autan, als Gemenge von zwei pulverisierten Körpern, die schon bei Zutritt feuchter Luft miteinander reagieren, eine

leicht zersetzliche Substanz darstellt. Unter diesen Umständen kann es vorkommen, daß eine Packung, falls sie undicht ist, verdirbt. Zudem fand Hammerl, daß die für einen bestimmten Raum (60 cbm) ausgegebenen Autanbüchsen einmal 1770, ein zweites Mal 1970 g enthielten, eine Tatsache, die an sich gewiß geeignet wäre, kleinere Differenzen in den Prüfungsergebnissen zu erklären.

Wie mißlich es aber gerade in der Desinfektionspraxis ist, sich nicht mit absoluter Sicherheit auf das Desinficiens verlassen zu können, braucht nicht betont zu werden. Es muß nur wunder nehmen, daß dieses Moment auch bei den Mitteln, die zur Wundbehandlung, Händedesinfektion etc. dienen, so wenig Beachtung findet.

Das Autan hat aber noch einen zweiten Fehler, den erst Hammerl und wir gebührend hervorgehoben haben. Es ist sehr teuer. Selbst wenn man nur die von der Fabrik normierten Mengen anwendet, kostet die Desinfektion von 100 cbm gegenwärtig ca. 17 Kronen; diese Mengen sind aber nach Hammerl, Christian, Xylander gar nicht ausreichend und bei höheren Quantitäten, wie sie Xylander vorschlägt, steigt der Betrag auf 30 Kronen. Für die amtliche Desinfektion können derartige Summen nicht verausgabt werden, und für private Zwecke steht zu bedenken, daß bei wohlhabenden Leuten die Apparatverfahren leicht anwendbar sind und daß der Vorzug der Einfachheit des Autanprozesses gerade in primitiveren Verhältnissen mehr in die Wagschale fällt.

Wir stimmen also Hammerl zu, der meint: „Nach meiner Anschauung befindet sich das Autanverfahren gegenwärtig noch nicht in einem für die allgemeine Einführung spruchreifen Stadium. Wohl aber erscheint mir mit der Herstellung dieses Präparates ein Weg beschritten zu sein, der hoffnungsvoll genannt werden kann und der Aussicht gewährt, daß in nicht allzu ferner Zeit die Raumdesinfektion wesentlich vereinfacht werden kann.“

Diese Hoffnung schien uns nun anfangs durch die Mitteilung von Evans und Russel erfüllt.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber das Wachstum der Typhus- und Colibacillen auf Nährböden, denen verschiedene organische Säuren zugesetzt sind.

[Aus dem Institute für Infektionskrankheiten, Berlin. Abteilung:
Prof. Frosch.]

Von Dr. Nikolai N. Paus aus Christiania.

Es würde eine sehr große praktische Bedeutung haben, wenn man beim Typhus ein gleich ergiebiges Anreicherungsverfahren hätte, wie das der Cholera, womit man leicht und sicher aus Kot, Wasser etc. Typhusbacillen züchten könnte. Aus diesem Grunde haben sich viele Forscher mit dem Wachstum dieser Bacillen auf den verschiedensten Nährsubstraten beschäftigt. Immer aber trotz vieler und neuer Versuche erwartet die Frage noch ihre befriedigende Lösung. Ich gehe davon aus, daß eine jede Arbeit die zur Beleuchtung der Biologie der Typhus- und Coli-Bacillen beitragen kann, ihre Bedeutung haben wird, und habe

auf Anregung von Prof. Frosch das Wachstum dieser Bacillen vergleichsweise auf verschiedenen sauren, bisher noch nicht systematisch untersuchten Substraten geprüft.

Das hat insofern ein besonderes Interesse, als schon zu wiederholten Malen ein charakteristisches Wachstum des Typhuserregers auf dieser Art Nährböden beschrieben worden ist. Nachdem Gaffky¹⁾ gezeigt hatte, welche Bedeutung die Kartoffelkultur zum Unterscheiden des Typhuserregers von anderen Keimen haben kann, und das charakteristische Wachstum der Typhusbacillen auf Kartoffeln von ihm beschrieben war, zeigte sich bei späteren Untersuchungen, daß das typische Wachstum nicht auf allen Kartoffelarten erschien, sondern erst deutlich an den Tag trat, wenn die Kartoffeln die normale, schwach saure Reaktion hatten.

Kitasato²⁾ ist der erste, der das Wachstum der Typhusbacillen auf Nährböden, welche verschiedene Säuren enthalten, untersucht hat. Er bediente sich neutraler Nährgelatine, welcher er Säuren in wachsender Menge zusetzte; weiter nahm er 24 Stunden alte Bouillonkulturen, setzte Säuren in verschiedenen Prozentsätzen zu, ließ diese 4–5 Stunden bei Zimmertemperatur einwirken, impfte jetzt 0,5 ccm von der Kultur in Gelatinerollplatten ein, um zu sehen, bei welchem Säuregrad Wachstum noch erfolgte. Er untersuchte anorganische und einzelne organische Säuren. Er konnte konstatieren, wie viel stärker die anorganischen Säuren einen hemmenden Einfluß übten als die organischen. Bemerkenswert ist besonders der Schluß, den er daraus zieht, nämlich, daß die Typhusbacillen den Säuren gegenüber viel resistenter sind als die Cholerabacillen, während diese ihrerseits viel besser Alkalien zu ertragen vermögen.

Kitasato³⁾ untersuchte auch den desinfizierenden Einfluß der Säuren den Typhusbacillen gegenüber, indem er einen Tropfen Bouillonkultur in ein Reagenzglas goß, in welches er 10 ccm Säurelösung gefüllt hatte. Er ließ die Säure $\frac{1}{2}$ –2 Stunden einwirken und versuchte nun, ob er aus dieser Aufschwemmung in gewöhnlicher Nährgelatine Wachstum bekommen könnte. Er prüfte die Resistenzfähigkeit sowohl der Typhusbacillen als der Kotbacillen und konnte immer nachweisen, daß die letzteren bedeutend mehr als die Typhusbacillen ertragen konnten.

Einige andere Forscher haben es versucht, sich saurer Reaktion in Nährsubstraten zu bedienen, um auf diese Weise Typhuskolonien zu isolieren.

Chantemesse und Vidal⁴⁾ wiesen nach, daß die Typhusbacillen sogar auf 2-proz. Salzsäuregelatine wachsen können. Doch fanden sie in der Praxis diesen Nährboden unbrauchbar; eine 0,2-proz. Karbolsäuregelatine hielten sie aber für sehr zweckmäßig, während Bartoschewitsch⁵⁾ die Methode nicht anwendbar fand.

Kitasato hatte nachgewiesen, daß die Typhusbacillen der Borsäure und Karbolsäure gegenüber verhältnismäßig sehr resistent sind. Dessen

1) Gaffky, Mitteil. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. II. 1884. p. 372.

2) Kitasato, Ueber das Verhalten der Typhus- und Cholerabacillen zu saure- und alkalihaltigen Nährböden. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. III. 1888. p. 408.)

3) Kitasato, Die negative Indolreaktion der Typhusbacillen im Gegensatz zu anderen ähnlichen Bakterienarten. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. p. 515.)

4) Chantemesse, A. et Vidal, F., Recherches sur le bacille typhique et l'étiologie de la fièvre typhoïde. 1887.

5) Bartoschewitsch, Ueber die Methode der Auffindung von Abdominaltyphusbacillen im Wasser. (Wratsch. 1888. No. 50. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VI. 1889. p. 466.)

bediente sich Heim¹⁾, indem er das Wachstum der Typhusbacillen auf Borsäure- und Karbolsäuregelatine untersuchte. Er konnte aber weder mit 1,5-proz. Borsäure noch 0,2-proz. Karbolsäure einen brauchbaren Nährboden herstellen.

Holz²⁾ beschrieb eine Kartoffelsaftgelatine, die, wenn sie einen bestimmten Säuregrad erreicht hatte, ein charakteristisches Wachstum geben sollte, und Parietti³⁾ versuchte, indem er der neutralen Bouillon Karbolsäure und Salzsäure zusetzte, die Typhusbacillen von anderen Bakterien abzusondern. Diese letztere Methode ist später von Kamen⁴⁾ bearbeitet worden.

Uffelmann⁵⁾ bediente sich der Zitronensäure und des Methylviolett, welche er gewöhnlicher, schwach alkalischer Fleischwasserpeptongelatine zusetzte. Er berichtet, daß die Typhusbacillen auf diesem sauren Substrat ein besonders charakteristisches Wachstum zeigen.

Dunbar⁶⁾ hat dagegen durch eingehende Nachuntersuchungen nachgewiesen, daß die genannten Nährböden gar keinen Vorteil darboten. Nach ihm lag den Untersuchungen der früheren Forscher (Holz, Parietti, Kamen, Uffelmann) entweder eine direkte Verwechslung der Typhusbacillen mit *Bacterium coli commune* zu Grunde, oder das „charakteristische“ Wachstum beruhte nur auf einer Hemmung. Coli-Bacillen wuchsen immer viel reichlicher als Typhusbacillen. Doch räumt Dunbar ein, daß Uffelmanns Gelatine viele Mikroorganismen ausschaltet, die sonst eine störende Wirkung haben, wenn Wasserproben untersucht werden. Dunbar untersuchte auch die Wirkung sowohl der Salzsäure, Schwefelsäure als Salpetersäure und fand, daß alle drei den Typhusbacillen mehr hemmend als den Coli-Bacillen gegenüber wirkten.

Schlüter⁷⁾ und etwas später Helm⁸⁾ stellten Versuche an, um ausfindig zu machen, wie die Säuren auf die Bakterien wirkten, wenn diese in der Form eines Striches in die mit Säuren versetzte Gelatine geimpft wurden. Schlüter fand, daß die Typhusbacillen sogar auf 1-proz. Milchsäuregelatine noch ein schwaches Wachstum zeigen; auf 1-proz. Weinsäurenährboden war allem Wachstum Einhalt gemacht, bei 0,25-proz. dagegen war das Wachstum recht gut. Helm hatte ähnliche Resultate. Er bewies, daß 0,1-proz. Milchsäure gutes Wachstum gestattete, daß aber schon 0,2-proz. die Entwicklung zu hemmen begann.

Essigsäure und noch mehr Salzsäure hemmten die Entwicklung viel stärker.

1) Heim, Ueber das Verhalten der Krankheitserreger der Cholera, des Unterleibstypus und der Tuberkulose in Milch, Butter, Molken und Käse. (Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. V. 1889.)

2) Holz, Experimentelle Untersuchungen über den Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. VIII. 1890. p. 143.)

3) Parietti, Metodo di ricerca del bacillo del tifo nelle acque potabili. (Rivista d'igiene e sanità pubblica. 1890. No. 11.)

4) Kamen, Zum Nachweise der Typhusbacillen im Trinkwasser. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XI. 1892. p. 33.)

5) Uffelmann, Ueber den Nachweis des Typhusbacillus. (Berl. klin. Wochenschr. 1891. No. 35. p. 857.)

6) Dunbar, Untersuchungen über den Typhusbacillus und den *Bacillus coli communis*. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XII. 1892. p. 485.)

7) Schlüter, Das Wachstum der Bakterien auf sauren Nährböden. [Diss.] Rostock 1892.

8) Helm, Mitteilungen über das Wachstum von Bakterien auf sauren Nährböden. [Diss.] Leipzig 1892.

Köhler¹⁾ hat ebenfalls eine Reihe Säuren in ihrem Verhältnis zu den Typhusbacillen und gewöhnlichen Wasserbakterien untersucht. Er machte seine Nährböden, indem er der Gelatine Säuren zusetzte und teilweise auf deren Oberfläche im Impfstrich impfte, teilweise, indem er dieselbe noch flüssig mit einer geringen Menge Bacillen beschickte. Er resümiert seine Resultate auf folgende Weise: Die Typhusbacillen haben eine ganz große Resistenz den Säuren gegenüber, ja sie zeigen in niedrigen Säurekonzentrationen sogar gutes Wachstum, besonders wenn die zugesetzte Säure Phosphorsäure oder irgend eine der organischen Säuren ist. Er gibt an, daß die Typhusbacillen in weit stärkerer Säurekonzentration in Strichkultur als in Rollkultur wachsen. Als Grund dafür bezeichnete er, daß entweder der vollständige Abschluß des Luft-sauerstoffes im letzten Falle nicht so gute Lebensbedingungen leistet, oder daß das Impfmateriale auseinandergerissen werde, und die Bakterien daher einzeln oder in wenigen Exemplaren zusammenliegend in die Gelatine eingebettet werden. Ferner erwies sich, daß in den Wasserproben immer Wasserbakterien von gleicher oder größerer Resistenzfähigkeit zu finden sind.

Bevor ich meine eigenen Resultate referiere, werde ich kurz angeben, auf welche Weise ich meine Nährböden dargestellt habe. Ich bediente mich gewöhnlicher, nicht alkalisierter Nährbouillon, die ich mit Natronlauge bis zum Phenolphthaleinnullpunkt neutralisierte. Aus der betreffenden Säure, die untersucht werden sollte, machte ich mir eine 10-proz. Auflösung in destilliertem Wasser und setzte nun zu 96 ccm Bouillon wachsende Mengen von dieser Säurelösung und goß endlich destilliertes Wasser ad 100 ccm dazu. Meine verschiedenen Mischungen werden daher folgende Zusammensetzung haben:

0,10-proz. Säure	= 96 ccm Bouillon	+ 1 ccm 10-proz. Säurelösung	+ 3 ccm Wasser
0,125 "	= 96 "	+ 1,25 "	10 " + 2,75 " "
0,150 "	= 96 "	+ 1,50 "	10 " + 2,50 " "

u. s. w.

Diese verschiedenen Säurebouillons wurden dann in Reagenzgläser abgefüllt und zwar genau 5 ccm in jedes, danach sterilisiert und zwar an 3 Tagen je 20 Minuten im Dampftopf.

Einzelne Säuren gestatteten Wachstum in so starker Konzentration, daß ich davon eine 20-proz. Lösung in Wasser benutzen mußte, um meine Nährböden darzustellen.

Die Impfung suchte ich auch bei den verschiedenen Versuchen möglichst gleichförmig zu machen, indem ich immer eine Oese aus einer 24 Stunden alten Agarkultur in 50 ccm Bouillon zerrieb. Aus dieser Aufschwemmung wurde 0,10 ccm eingimpft.

Ich erlaube mir, darauf aufmerksam zu machen, daß meine Resultate nicht aus einer einzelnen Versuchsreihe, sondern aus wiederholten Untersuchungen und Nachprüfungen herrühren. Ich habe immer sowohl die Bakterieneinsaat gezählt als auch die Anzahl, welche nach 24 Stunden erscheint. Alle meine Zahlen und Versuchsreihen anzuführen, würde doch keinen Zweck haben; es würde auch überflüssig, jede einzelne Säure hier zu besprechen; denn die verschiedenen chemischen Säuregruppen

1) Köhler, Karl, Ueber das Verhalten des Typhusbacillus gegenüber verschiedenen chemischen Agentien, im besonderen Säuren, Alkalien und Anilinfarbstoffen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIII. 1893. p. 54.)

zeigen untereinander eine so große Gleichheit, daß die einzelnen Säuren jeder Gruppe leicht in einer gemeinschaftlichen Uebersicht behandelt werden können.

Fettsäuren¹⁾.

Wie überall, wo es sich um saure Substrate handelt, wachsen die Coli-Bacillen auch in den fettsauren Nährböden bedeutend besser als die Typhusbacillen. Neben den Dikarbonsäuren sind es die Fettsäuren, die den stärksten hemmenden Einfluß auf das Wachstum ausüben. Bei 0,125 Proz. wachsen die Typhusbacillen gut; je stärker aber der Säuregrad wird, desto schlechter wird das Wachstum. Bei 0,175 Proz. gibt es noch ein ziemlich starkes Wachstum für Ameisensäure und Essigsäure; bei Propionsäure aber und noch mehr bei Buttersäure ist das Wachstum nur kümmerlich. Bei 0,20 Proz. kann nach 24 Stunden gar kein Wachstum mehr bemerkt werden.

Die Coli-Bakterien wachsen bedeutend besser; selbst bei 0,15 Proz., bei 0,175 Proz. ist das Wachstum gut und erst bei 0,225 und 0,250 Proz. vermehren sie sich nicht mehr.

Recht interessant ist es, daß sowohl die Typhus- als auch die Coli-Bacillen besser Isobuttersäure vertragen als die gewöhnliche Buttersäure. Erst bei 0,25 Proz. wird bei dieser Säure allem Wachstum der Typhusbacillen Einhalt getan, und es sind sogar 0,275 Proz. erforderlich, bevor die Coli-Bacillen zu wachsen aufhören.

Wenn ich die Vermehrung der Bakterien in den verschiedenen Konzentrationen zählte, zeigte sich immer, daß sich Coli- mehr als Typhusbacillen vermehrt hatten und zwar in verhältnismäßig stärkerem Grade, je nachdem der Säuregrad stärker war.

Durch Titration mit $\frac{N}{10}$ NaOH zeigte es sich, daß die Typhusbacillen erst bei einem Säuregrad entsprechend 3,7 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm propionsaurem Nährsubstrat nicht mehr wachsen konnten; bei Ameisensäure dagegen nur bis zu einer Acidität entsprechend 2,9 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH. Die Coli-Bacillen konnten immer bis zu einem stärkeren Säuregrad wachsen, im ameisensauren Substrat bis zu einer Acidität entsprechend 3,5 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH und im propionsauren bis zu einer Acidität entsprechend 3,9 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm Nährsubstrat.

Oxysäuren²⁾.

Bei diesen Säuren wachsen die beiden Bakterien bedeutend besser, und es ist hier wohl zu bemerken, daß die Resistenzfähigkeit der Typhusbacillen allen diesen Säuren gegenüber sich mehr als bei den früher

- | | |
|---|--|
| 1) Ameisensäure: HCOOH | } Propionsäure: $\text{C}_2\text{H}_5\text{COOH}$ |
| Essigsäure: CH_3COOH | |
| | |
| 2) Glykolsäure (Oxyessigsäure): $\text{CH}_2(\text{OH})\text{COOH}$ | |
| Gärungsmilchsäure | } -Oxypropionsäure: $\text{C}_2\text{H}_4(\text{OH})\text{COOH}$ |
| Paramilchsäure | |
| Oxybuttersäure | |
| Oxyisobuttersäure | |

erwähnten Säuren derjenigen der Coli-Bakterien zu nähern scheint. Doch gibt es auch hier, selbst in den niedrigen Konzentrationen eine Verschiedenheit, indem nämlich die Typhusbacillen niemals vermögen sich so stark zu vermehren wie die Coli-Bacillen.

Am schlechtesten ist das Wachstum der beiden Bacillenarten bei einem Zusatz von Glykolsäure, etwas besser bei Milchsäure und am besten bei Oxybuttersäure. So gibt es nach 24 Stunden bei 0,25-proz. Glykolsäure kein Typhuswachstum mehr, während erst 0,325 Proz. erforderlich sind, um dem Wachstum in Milchsäure und Oxybuttersäure Einhalt zu tun, ja in der letzteren konnte man nach 48 Stunden sogar in dieser Konzentration ein schwaches Wachstum nachweisen. Die Coli-Bakterien wuchsen bei Glykolsäurezusatz bis 0,275 Proz. von dieser Säure, bei Milchsäure- und Oxybuttersäurezusatz bis 0,350 Proz.

Was die Paramilchsäure betrifft, so zeigt sich dieselbe etwas stärker wachstumshemmend als die gewöhnliche Milchsäure und ebenso die Oxyisobuttersäure stärker als die gewöhnliche Oxybuttersäure. Die Paramilchsäure hemmt jedes Typhuswachstum erst bei 0,275 Proz., das der Coli-Bacillen in 0,30 Proz., und die Oxyisobuttersäure das Wachstum der Typhusbacillen in 0,30 Proz. und dasjenige der Coli-Bacillen in 0,325 Proz.

Das Titrieren zeigte, daß sowohl die Typhus- als die Coli-Bacillen eine stärkere Acidität bei diesen Säuren als bei den Fettsäuren ertrugen. Bei Milchsäure konnte erst eine Säuremenge in 10 ccm-Nährböden,

4,3 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH entsprechend, dem Wachstum der Typhusbacillen, und

4,5 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH entsprechend dem der Coli-Bacillen Einhalt tun.

Dikarbonsäuren¹⁾.

Weder Typhus- noch Coli-Bakterien ertragen einen so großen Zusatz von diesen, Säuren jedenfalls nicht von der Oxal- und der Malonsäure, wie von den Oxysäuren. Die Dikarbonsäuren zeigen vielmehr eine antiseptische Eigenschaft beinahe wie die Fettsäuren; ja die Oxalsäure z. B. wirkt noch stärker als diese. Ganz eigentümlich ist es, daß die beiden erwähnten Bakterienarten bei Zusatz von diesen Säuren bis zu ganz beträchtlich hoher Acidität zu wachsen vermögen, wenn man diese nach der Menge Natronlauge berechnet, die nötig ist, um das Nährsubstrat zu neutralisieren. So zeigen die Typhusbacillen ein Wachstum in Malonsäurenährboden, fast bis dessen Acidität pr. 10 ccm 5,5 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH entspricht, und die Coli-Bacillen sogar bei einer Acidität 6 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH entsprechend.

In Prozenten berechnet, haben wir dagegen für Typhusbacillen nur ein Wachstum bis 0,225 Proz. bei Zusatz von derselben Säure, und für die Coli-Bakterien bis zu 0,250 Proz. Im ganzen genommen, gibt es für die verschiedenen Säuren gar keinen Parallelismus zwischen der Acidität und der Prozentgröße, bei der die Bakterien zu wachsen vermögen, ein Beweis, daß außer der sauren Reaktion auch die Säuren auf

1) Oxalsäure: $(\text{COOH})_2$,
 Malonsäure: $\text{CH}_2(\text{COOH})_2$,
 Bernsteinsäure: $\text{C}_2\text{H}_4(\text{COOH})_2$,

die Bakterien wirken im Verhältnis zu der antiseptischen Kraft, welche jeder einzelnen zukommt. Während wir, wie eben erwähnt, für die Malonsäure einen Säuregrad haben, der $5,5 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH pr. } 10 \text{ ccm}$ Nährsubstrat entspricht, in welchem das Wachstum der Typhusbacillen aufhört, und ein Prozent von 0,225 Proz., haben wir für die Oxybuttersäure nur $3,5 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH pr. } 10 \text{ ccm}$ Nährsubstrat, in Prozenten aber 0,325 Proz.

Für die Bernsteinsäure, welche unter den Dikarbonsäuren ein Wachstum in der stärksten Prozentkonzentration gestattet, nämlich für die Typhusbacillen gegen 0,275 Proz. und für die Coli-Bacillen gegen 0,3 Proz., hört jedes Wachstum auf, wenn die Acidität pr. 10 ccm Nährboden für die Typhusbacillen $4,9 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH}$, für die Coli-Bacillen $5,3 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH}$ entspricht.

Oxybernsteinsäuren und Zitronensäure¹⁾.

Diese Oxy- oder Dioxysäuren gleichen in ihrem Verhalten zu den erwähnten Bakterien sehr den Oxysäuren der Fettsäurereihe. Sowohl die Typhus- als die Coli-Bacillen zeigen in den niedrigen Konzentrationen ein gutes, ja sogar ein sehr gutes Wachstum. Wird aber das Säureprozent größer, so nimmt bald das Wachstum der Typhusbacillen ab, und bei 0,275 Proz. kann man keine Vermehrung mehr nachweisen. Die Coli-Bacillen dagegen vermehren sich, wenn auch schwach, noch bei 0,30 Proz.

Bei Zählung von eingepflichten Bakterien im Vergleich mit ihrer Anzahl in 24 Stunden alten Kulturen zeigte sich auch bei Zusatz von diesen Säuren selbst bei den niedrigen Konzentrationen eine stärkere Vermehrung von den Coli-Bacillen als von den Typhusbacillen.

Was den Säuregrad betrifft, bei welchem alles Wachstum aufhört, so ist derselbe ungefähr wie derjenige der Dikarbonsäure. Z. B. für die Weinsäure $4,0 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH pr. } 10 \text{ ccm}$ Nährsubstrat entsprechend, wo das Wachstum der Typhusbacillen aufhört, und $4,7 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH}$, wo dem Wachstum der Coli-Bacillen Einhalt getan wird, während die entsprechenden Zahlen für Zitronensäure $5,6 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH}$ und $5,9 \text{ ccm } \frac{N}{10} \text{ NaOH}$ sind.

Einige andere Säuren²⁾,

wie Mandelsäure, Glycerinsäure und Chinasäure, zeigen eine viel geringere antiseptische Wirkung. Die Mandelsäure erlaubt den Typhus-

- | | |
|---------------------------------------|---|
| 1) Apfelsäure = Oxybernsteinsäure: | $\text{C}_4\text{H}_5(\text{OH})(\text{COOH})_2$ |
| Weinsäure = Dioxbernsteinsäure: | $\text{C}_2\text{H}_2(\text{OH})_2(\text{COOH})_2$ |
| Zitronensäure = Oxytrikarballylsäure: | $\text{C}_6\text{H}_4(\text{OH})(\text{COOH})_3$ |
| 2) Mandelsäure = Phenylglykolsäure: | $\text{C}_6\text{H}_5\text{CH}(\text{OH})\text{COOH}$ |
| Glycerinsäure = Dioxyproprionsäure: | $\text{C}_3\text{H}_5(\text{OH})_2\text{COOH}$ |
| Chinasäure: | $\text{C}_7\text{H}_{12}\text{O}_8 = \text{C}_6\text{H}_7(\text{OH})_4 \cdot \text{COOH}$ |

bacillen, wenn auch ganz schwach, selbst bei 0,375 Proz., den Coli-Bakterien bei 0,425 Proz. zu wachsen. In noch höherem Grade kann man die Glycerinsäure zusetzen, ohne daß das Wachstum aufhört, welches bei den Typhusbacillen erst mit 0,40 Proz., bei den Coli-Bacillen mit 0,45 Proz. aufhört. Chinasäure dagegen kann in 0,55 Proz. zugesetzt werden, bevor alles Typhuswachstum, und in 0,65 Proz., ehe alles Coli-Wachstum aufhört.

Was dagegen die Acidität betrifft, in welcher Wachstum noch bei diesen Säuren stattfindet, so ist sie verhältnismäßig niedrig. So können die Typhusbacillen in mandelsaurem Nährboden nur zu einer Acidität 3,2 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm Nährsubstrat entsprechend, in glycerin-

saurem bis zu 4,2 ccm und in chinasaurem zu 3 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH wachsen.

Die Coli-Bakterien wachsen mit Zusatz von Mandelsäure bis zu einer Acidität 3,8 ccm, von Glycerinsäure 4,5 ccm und von Chinasäure 3,4 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm Nährsubstrat entsprechend.

Amidosäuren¹⁾.

Verhältnismäßig stark hemmend auf das Wachstum der Bakterien wirkt die Amidobenzoesäure. Ganz anders wirken die Amidosäuren der Fettsäurereihe; mit ihrer verhältnismäßig sehr schwach sauren Reaktion scheinen sie, selbst in recht starker Konzentration, nicht das Wachstum zu hemmen. Doch auch beim Zusatz von diesen scheint das Vermögen der Coli-Bacillen, sich zu vermehren, bedeutend größer zu sein als das der Typhusbacillen. In welcher Konzentration man auch die Anzahl der Bakterien in der Einsaat und in 24 Stunden alten Kulturen zählt, immer findet man eine reichere Vermehrung der Coli-Bacillen als der Typhusbacillen.

Glykokol und Alanin²⁾ geben, was die Coli-Bacillen betrifft, gutes Wachstum bis zu einer Konzentration von 1 Proz., während die Typhusbacillen schon bei diesem Prozentgehalt nur ein mittelmäßiges und bei 1,5 Proz. nur ein beschränktes Wachstum zeigen. Bei 2 Proz. zeigen sowohl Typhus- als Coli-Bacillen ein geringes Wachstum, und in 2,5 Proz. vermag keiner von denselben zu wachsen. Nach 48 Stunden ist das Wachstum, besonders was die Coli-Bacillen betrifft, noch besser, indem die Coli-Bacillen nach dieser Zeit selbst bei 2,5 Proz. ein mäßiges Wachstum zeigen; erst bei 3,5 Proz. hört jedes Wachstum auf.

Anorganische Säuren

sind früher so genau untersucht, daß ich nur einige Versuche gemacht habe, um dieselben mit meinen Resultaten bei der Untersuchung der organischen Säuren zu vergleichen. Bei den früheren Untersuchungen sowohl als bei den meinigen zeigte sich, wie viel stärker diese Säuren wirken als die organischen; nur die Phosphorsäure gibt gute Wachstumsbedingungen sowohl was die Typhus- als was die Coli-Bacillen betrifft,

1) Amidobenzoesäure: $C_6H_5(NH_2)COOH$

Glykokol-Amidoessigsäure: $CH_2(NH_2)COOH$

Alanin-Amidopropionsäure: $C_2H_5(NH_2)COOH$

2) Weil diese Stoffe in so starker Konzentration ein Wachstum erlauben, wurden, was diese betrifft, die verschiedenen Nährsubstrate damit so gemacht, daß man die betreffenden Stoffe direkt in Bouillon auflöste.

besonders natürlich in den niedrigen Konzentrationen. Sogar bei einem Säureprozent mehr als demjenigen, in welchem in den Fettsäuren Typhuswachstum noch erscheint, vermögen die Typhusbacillen sich bei Zusatz von diesen Säuren zu vermehren. Erst 0,25-proz. Phosphorsäure vermag allem Wachstum von Typhusbacillen und 0,275-proz. demjenigen der Coli-Bacillen Einhalt zu tun.

Weit stärker wirkt die Salzsäure, welche in 0,10 Proz. nur äußerst geringe Entwicklung der Coli-Bacillen gestattet, während die Typhusbacillen gar kein Wachstum zeigen. Etwas schwächer wirkt die Salpetersäure, indem das Wachstum der Typhusbacillen in Nährböden, mit dieser Säure zugesetzt, erst gegen 0,110 Proz. und das der Coli-Bacillen bei 0,120 Proz. aufhört. Die Schwefelsäure wirkt bedeutend stärker als alle erwähnten Säuren.

Die Acidität, bei der jedes Wachstum aufhört, entspricht, was die Typhusbacillen betrifft, 5,00 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm salzsaurem Nährboden und 4,7 ccm $\frac{N}{10}$ NaOH pr. 10 ccm salpetersaurem.

Wenn ich zuletzt resumiere, was diese Untersuchungen gezeigt haben, so gestaltet sich das Resultat, wie folgt:

Sowohl die Typhus- als die Coli-Bacillen vermögen selbst in ziemlich starkem Säuregrad der untersuchten organischen Säuren zu wachsen. Die Coli-Bacillen vermehren sich dabei immer stärker als die Typhusbacillen. Ich fand keine Säure und keine Konzentration, die das umgekehrte Verhältnis zu bewirken vermag. Die Coli-Bacillen vermögen auch mit allen Säuren bei so großem Säureprozent zu wachsen, bei dem kein Wachstum der Typhusbacillen mehr gesehen wird.

Es ist indessen gar kein Parallelismus zwischen der Wirkung, welche die verschiedenen Säuren ausüben auf die Typhus- und die Coli-Bacillen, zu konstatieren. Im Verhältnis zu den Coli-Bakterien scheinen ja die Typhusbakterien sich in den niedrigen Konzentrationen der Oxysäuren und auch der Fruchtsäuren am besten zu vermehren. Das Verhältnis bei den Fettsäuren und den anorganischen Säuren ist ganz entgegengesetzt, indem die Coli-Bacillen bei Zusatz von denselben immer viel reichlicher als die Typhusbacillen wachsen. Doch muß man, was die letzten Säuren betrifft, eine Ausnahme machen, indem phosphorsaures Nährsubstrat auch für die Typhusbacillen einen guten Boden zu geben scheint.

Die verschiedenen Säuren derselben chemischen Gruppe wirken innerhalb gewisser Grenzen ziemlich gleichförmig auf das Wachstum der Bakterien.

Endlich muß, wie früher erwähnt, hervorgehoben werden, daß die Bakterien bei dem Zusatz einer Säure in höherem Prozent als beim Zusatz einer anderen gut wachsen können, während diese letztere umgekehrt Bakterienwachstum in stärkerer Acidität als die erstere gestatten kann. Es ist also kein Parallelismus zwischen der Prozentgröße und der Acidität, bei welcher die Bakterien Wachstum zeigen können.

Um einen klaren Ueberblick zu geben, wie sich die Typhus- und Coli-Bacillen den erwähnten Säuren gegenüber verhalten, füge ich folgende Tabelle hinzu, die das Prozentverhältnis resp. den Säuregrad zeigt, bei welchem man nach 24 Stunden kein Wachstum nachweisen

konnte bis auf einzelne Fälle, in denen man nach 48 Stunden ein schwaches Wachstum nachweisen konnte.

			Die Menge $\frac{N}{10}$ NaOH, die der Acidität in 10 ccm Nährsubstrat entspricht. Bei 48-stündigem Wachstum	
	Typhus	Coli	Typhus	Coli
Ameisensäure	0,20 Proz.	0,225 Proz.	2,9 ccm	3,5 ccm
Essigsäure	0,20 "	0,25 "	3,2 "	3,7 "
Propionsäure	0,20 "	0,25 "	3,7 "	3,9 "
Buttersäure	0,20 "	0,225 "	3,5 "	3,7 "
Isobuttersäure	0,25 "	0,275 "	3,6 "	4,0 "
Glykolsäure	0,25 "	0,275 "	3,8 "	4,4 "
Milchsäure	0,325 "	0,35 "	4,3 "	4,5 "
Paramilchsäure	0,275 "	0,30 "	3,8 "	4,2 "
Oxybuttersäure	0,325 "	0,35 "	3,5 "	3,7 "
Oxyisobuttersäure	0,30 "	0,325 "	3,6 "	3,8 "
Oxalsäure	0,175 "	0,20 "	4,4 "	4,6 "
Malonsäure	0,225 "	0,25 "	5,5 "	6,0 "
Bernsteinsäure	0,275 "	0,30 "	4,9 "	5,3 "
Apfelsäure	0,275 "	0,325 "	4,4 "	5,2 "
Weinsäure	0,275 "	0,325 "	4,0 "	4,7 "
Zitronensäure	0,275 "	0,325 "	5,6 "	5,9 "
Mandelsäure	0,375 "	0,425 "	3,3 "	3,8 "
Glycerinsäure	0,40 "	0,45 "	4,2 "	4,5 "
Chinasäure	0,55 "	0,65 "	3,0 "	3,4 "
Amidobenzoesäure	0,250 "	0,325 "	2,8 "	3,1 "
Glykokol	2,5 "	2,5 "		
Alanin	2,5 "	2,5 "		
Phosphorsäure	0,25 "	0,275 "	7,3 "	7,8 "
Salpetersäure	0,11 "	0,12 "	4,7 "	4,9 "
Salzsäure	0,10 "	0,11 "	5,0 "	5,8 "

Am Schlusse dieser Arbeit ist es mir eine überaus liebe Pflicht, außer Herrn Geh.-Rat Frosch auch Herrn Geh.-Rat Proskauer meinen herzlichen Dank für die wertvolle Unterstützung bei diesen Untersuchungen auszusprechen.

Nachdruck verboten.

Das Verhalten der *Spirochaete pallida* (Schaudinn) bei der Giemsa-Färbung.

[Aus dem Institut für Hygiene und Bakteriologie der Universität in
Straßburg (Direktor: Prof. Dr. Forster).]

Von J. Schereschewsky, Moskau.

Mit 1 Tafel und 1 Figur.

Die Entdecker der *Spirochaete pallida* färbten ihre Ausstriche (7, 8) mit der Giemsa-Lösung in Verdünnung von 1 Tropfen auf 1 ccm Aqua dest., indem sie die Färbung bis zu 24 Stunden ausdehnten. Die Spirochäte färbte sich dabei blaß und gab auch den Anlaß zu dem Beinamen „*pallida*“. Es war recht mühsam, auf solche Weise die Spirochäte stets aufzufinden, und man weiß es recht gut, wie aus den vielen Publikationen über Spirochätenbefund, so hauptsächlich aus den Erfahrungen jedes Einzelnen, wie lange man sich vergeblich abmühte, eine Spirochäte zu finden.

Und doch ist die *Spirochaete pallida* auf die einfachste Weise darzustellen, und zwar so intensiv und vielzählig, daß definitiv jede Untersuchung von Sklerose, besonders Papel und Condylom, konstant eine zahlreiche Anwesenheit der Spirochäte sofort erkennen läßt. Wir verfügen über ein Material von über 100 Fällen, die von mir gemeinsam mit Dr. Eisenzimmer von der syphilidologischen Klinik untersucht wurden, und wir können sagen, daß wir kaum einen spirochätennegativen Fall zu verzeichnen hätten. Diesen Effekt bei einfachster Untersuchungstechnik verdanken wir der Befolgung zweier Hauptmomente, von denen lediglich der Erfolg der Färbung abhängt. Diese zwei Momente sind folgende:

- 1) Zur intensiven Färbung der Spirochäte bedarf es einer möglichen Isolierung derselben, denn ihr Milieu, sei es Serum oder Gewebe, färbt sich mit und verhindert ihr Hervortreten durch Kontrastwirkung und Ueberdeckung.

- 2) Die Giemsa-Lösung verliert ihre Färbekraft der Spirochäte gegenüber, sobald sie in Fällung begriffen ist. Es kommt lediglich darauf an, durch Erhitzen die Färbekraft der verdünnten Lösung zu potenzieren, jedoch die minimalste Fällung in ihr zu verhindern.

Wie kommt man diesen zwei Postulaten nach, und durch welche Belege lassen sie sich beweisen?

Was das Moment der Isolierung, Freilegung der Spirochäte, anbelangt, so läßt sich dieses in erster Linie durch einen ideal dünnen Ausstrich erzielen. Zu diesem Zweck wird z. B. aus dem zentralen Teile einer Papel durch Kratzen 1 Tropfen von Reizserum gewonnen, dieser wird auf das linke Ende vom Objektträger gebracht und nun mit der Kante eines anderen Objektträgers durch Kapillarität über das ganze Glas gezogen. Auf solche vielfach empfohlene Weise wäre ein recht dünner Ausstrich erzielt, und man ist auch der Möglichkeit, die Spirochäte zu isolieren, am nächsten getreten. Daß ein Freilegen der Spirochäte für die Intensität ihrer Färbung maßgebend ist, konnten wir auf folgende Weise zeigen: Wir befanden uns in der außerordentlich gün-

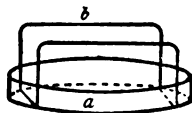
stigen Lage, Syphilisspirochäten aus einem Nährboden isolieren zu können. Wir hatten auf solche Weise die Möglichkeit, einzelne Exemplare, in einem Wassertropfen umgerührt und auf besagte Weise ausgestrichen, fast vollkommen frei von jeglicher umhüllenden Substanz auf dem Objektträger zu erhalten. Bei dieser Gelegenheit erschienen die Spirochäten derart intensiv gefärbt, daß auch hier ihre „Pallidatur“ nur deswegen sehr stark angezweifelt wurde, trotz der unverkennbaren Windungseigentümlichkeiten. Weiterhin konnte auch gezeigt werden, daß in der Partie des Präparates, wo der Ausstrich dicker war (die Partie des nicht ausgezogenen Tropfens), sich auch deutlich schwächere Individuen demonstrieren ließen. Dieser Gesichtspunkt der notwendigen Freilegung der Spirochäte zu ihrer Sichtbarmachung und intensiveren Färbung ist als erwiesen anzusehen. Außerdem haben unsere erfolgreichen Nachweise der Spirochäte im Gewebe nach diesem Prinzip der Isolierung auch durch Schmorl (1) ihre Unterstützung gefunden. Es entspricht diesem Prinzip natürlich, daß zum Nachweis der Spirochäte im Gewebe dieses letztere durch mehrfaches Zerreiben zwischen zwei Objektträgern und weiteres Zerreiben im Tropfen Wasser eine Isolierung der Spirochäte ergeben muß. Zur Illustration des Besagten sind Mikrophotogramme beigelegt, deren Herstellung wir der Freundlichkeit des Herrn Prof. Wolff und des Herrn Prof. Bethe verdanken. Fig. I zeigt eine Spirochäte aus einem 8-tägigen Nährboden. Man nimmt hier wahr, daß die recht intensive Spirochäte auf einem fast völlig ungefärbten Untergrund zu liegen kommt, während Fig. II deutlich schwächer gefärbt erscheinende Individuen auf und an Blutkörpern oder auf gefärbter Unterlage darstellt. Wenn man nun Fig. III und IV, welche Fig. I und II in starker Vergrößerung darstellen, vergleicht, so fällt es in erster Linie auf, daß auf Fig. IV der Untergrund viel stärker gefärbt ist als auf Fig. III. Weiter ist wegen der Größenverhältnisse auch gut zu erkennen, daß die Spirochäten auf Fig. III und IV gleiche Tinktionsstärke aufweisen. Bei der Betrachtung der Präparate auf Fig. I und II und insbesondere unter dem Mikroskop erschien aber die Spirochäte auf ungefärbtem Untergrund derart intensiv, daß sie, wie gesagt, als „Nicht-Pallida“ angesprochen wurde. Hieraus wäre also zu ersehen, daß die Intensität der Spirochäte von der Kontrastwirkung ihrem Milieu gegenüber abhängt, und die weitere Folgerung würde besagen, daß zur Erkennung der Syphilisspirochäte in verschiedenen Medien eine schwächere oder stärkere Verfärbung nicht als ausschlaggebend anzusehen wäre. Auf Fig. IV sieht man noch die recht häufige Erscheinung, daß Spirochäten an Blutkörper angesaugt auftreten und sind diese nicht mit Blutkörpernrandern zu verwechseln, wie es seinerzeit von Saling geschehen ist. Fig. I ist aus dem Material über die Kultur der Syphilisspirochäte entnommen, worüber wir später noch ausführlich mitteilen werden.

Das zweite Moment, dessen Befolgen zur Erzielung einer intensiven Spirochätenfärbung binnen kürzester Zeit von außerordentlicher Wichtigkeit ist, beruht auf der Eigenschaft der verdünnten Giemsa-Lösung, in Fällungszustand zu geraten und in diesem Zustande seine Färbekraft einzubüßen.

Wie erhöht man nun die Färbekraft der Giemsa-Lösung und wie verhindert man das Zustandekommen der Fällung? Wie die Mehrzahl der Farbstoffe, arbeitet auch die Giemsa-Lösung viel rascher durch den Einfluß der Wärme und Erhöhung der Konzentration. Dementsprechend nehmen wir 13–15 Tropfen alter Giemsa-Lösung auf 10 ccm

0,5-proz. Glycerinlösung (der Glycerinzusatz ist von Loeffler angegeben worden (2) und hat sich uns als sehr geeignet erwiesen) und kochen in einem peinlich sauberen Reagenzglas das Gemisch auf. Zeigt sich jetzt im Reagenzglas keine Fällung, so übergießen wir das Präparat mit der kochenden Lösung, belassen es 2—3 Minuten und erhalten eine denkbar gute Färbung. Sobald wir nur erblicken, daß auf dem Präparat in der Farbflüssigkeit eine geringe Fällung eingetreten ist, so ist gute Färbung von vornherein als aussichtslos anzusehen. Diese Fällung kommt recht häufig vor, und es kommt nur darauf an, sie zu verhüten. Das erzielt man dadurch, daß man die kochende aufgegosene Lösung vor Berührung mit Stoffen vermeidet, die etwaige Fällung hervorrufen könnten. Wir bedienen uns zu diesem Zweck einer einfachen aus Glasstab gebogenen Färbebank, welche den Ausstrich und die Farblösung

Fornetsche Färbebank.
a runde Glasschale, b gebogener Glasstab.



außerhalb jeglicher Berührung mit Farbstoffresten, das bei Verwenden von Pincetten etc. immer gegeben ist, gestattet. So bekannt dieses alles auch erscheint, sind Mißerfolge nur auf ein Nichtbefolgen der störenden Momente zu beziehen. Was die Alkoholfixation und die Säurereinigung der Objektträger anbetrifft, so sind diese nicht nur überflüssig, sondern der Giemsa-Färbung nichts weniger als dienlich. Um uns davon zu überzeugen, daß eine Giemsa-Lösung im Fällungszustande ihre Färbekraft einbüßt, führten wir die Färbung mit einer ausgefallenen Mischung aus, die nach nicht zu langem Stehen entstanden ist. Der Effekt war der, daß wir Präparate erhielten, in denen die Spirochäte in ihrer vollen „Pallidanatur“ auftrat, d. h. ebenso blaß gefärbt war, wie es bei der Färbung nach den ursprünglichen Angaben in 24 Stunden zu erreichen war (8). Als unmittelbare Konsequenz des Gesagten würde sich ergeben, daß, je länger man das Präparat in der verdünnten Giemsa-Lösung stehen läßt, desto weniger intensive Färbung ist zu erzielen. Es kommt also auf ein Erhitzen der Giemsa-Mischung unter besagten Kautelen an, wobei der Schwerpunkt in der Verhinderung der Fällung zu liegen käme. Versuche, erhitzte Giemsa-Lösung zur Spirochätenfärbung anzuwenden, sind früher von Forest (3), Preisz (4) und Loeffler (2) publiziert worden, jedoch ist dem Moment der Fällungsmöglichkeit nicht bei allen entsprechende Würdigung entgegengebracht worden. Die empfohlene Verwendung einer Beize erscheint uns als überflüssig, da diese in vorzüglicher Weise durch das Azur II in der Giemsa-Lösung schon gegeben ist. Ich teilte vor einiger Zeit eine Färbemethode mit (5), die im Prinzip das Gleiche darbietet, jedoch viel umständlicher ist, ohne der Sache dienlicher zu sein.

Die besprochenen Gesichtspunkte ergeben folgende vereinfachte Färbetechnik:

Ein dünn bestrichener Objektträger wird noch feucht auf einige Sekunden in eine Osmiumröhre (Hamm) (10) gebracht, an der Luft getrocknet, dreimal durch die Flamme gezogen und auf die erwähnte Färbebank gelegt. In sauberem Reagenzglas werden 10 ccm 0,5-proz. Glycerinlösung mit 13 Tropfen alter Giemsa-Lösung (Tropfflasche!) bis zum Sieden erhitzt und, nachdem man sich überzeugt hat, daß keine

Fällung zufällig eingetreten ist, sogleich über den Ausstrich gegossen. Nach 2—3 Minuten gießt man die Farblösung ab und sieht nach, ob der Ausstrich genügend gefärbt ist, d. h. ob sich für ein gelungenes Präparat typische dominierende Eosinverfärbung, die an etwajen dickeren Portionen bläulich aussieht, zeigt. Ist dieses noch nicht der Fall, so wiederholt man die Färbung in gleicher Weise — es kommt vor, daß man dieses 2—3mal durchzuführen hat.

Mit Immersion und Okular 4 (Leitz) sieht man dann in einem kurz abgespülten und zwischen Fließpapier getrockneten Präparat die denkbar intensiven „*Spirochaetae pallidae*“, deren Beiname hierbei nicht mehr als markierend anzusehen ist.

Literatur.

- 1) Schmorl, Die Färbung der *Spirochaeta pallida* im Schnittpräparat nach Giemsa. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 22.)
- 2) Loeffler, Neues Verfahren zur Schnelfärbung von Mikroorganismen etc. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 5. p. 170.)
- 3) Forest, Morphologie der *Spirochaeta pallida* etc. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. Heft 7.)
- 4) Preisz, Der bakteriologische Nachweis der Lues. (Wien. med. Presse. 1906. No. 49.)
- 5) Schereschewsky, J., Zum Nachweis der *Spirochaeta pallida* im Ausstrich. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 12.)
- 6) Fornet und Schereschewsky, Serodiagnose bei Lues, Tabes und Paralyse durch spezifische Niederschläge. (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 30.)
- 7) Sobernheim, Spirillozen. (Kolle und Wassermanns Handbuch der path. Mikroorganismen. Ergänzungsband Heft 2.)
- 8) Hoffmann, Die Aetiologie der Syphilis. Berlin 1906.
- 9) Giemsa, Beitrag zur Färbung der *Spirochaeta pallida* (Schaudinn) in Ausstrichpräparaten. (Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 17. p. 676.)
- 10) Hamm, Beobachtungen über Bakterienkapseln auf Grund der Weidenreichschen Fixationsmethode. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. Heft 3.)

• Tafelerklärung.

Fig. III und IV stellen Vergrößerungen aus Fig. I und II dar (s. Text).

Nachdruck verboten.

Ueber die Empfindlichkeit einiger in der Bakteriologie verwendeter Reagentien.

Von Dr. Hugo Kühl, Hamburg.

Zum Nachweis von Nitrit gebraucht man einmal die Jodkalistärke, sodann auch die Griesssche Azofarbstoffreaktion. Peter Griess (1) benutzte als Reagens das Phenylendiamin, wobei als gelber Farbstoff Bismarckbraun entstand. Nach dem Vorschlag von Ilosvay v. Ilosva (2) verwendet man jetzt eine essigsäure Lösung von Sulfanilsäure und α -Naphthylamin. Merck (3) schlägt eine schwefelsäure Lösung von Sulfanilsäure vor. Diese wird der auf Nitrit zu prüfenden Flüssigkeit zugesetzt und 5—10 Minuten später die Naphthylaminsulfatlösung. Infolge der Bildung von schön rotgefärbten Azofarbstoffen ist die Gegenwart von Nitrit noch nachweisbar, wenn 0,032 mg Nitrit in 100 ccm Wasser gelöst sind. In nachfolgender Abänderung der Reaktion gelang

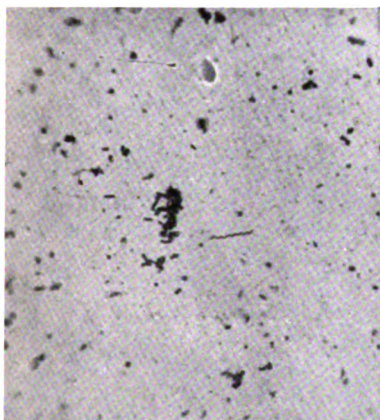


Fig. I.

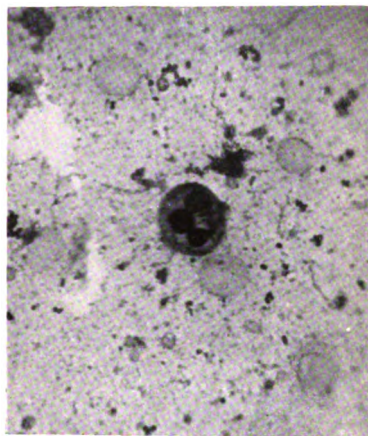


Fig. II.

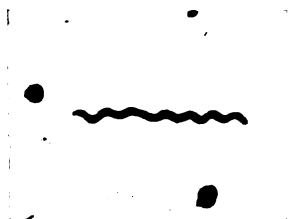


Fig. III.

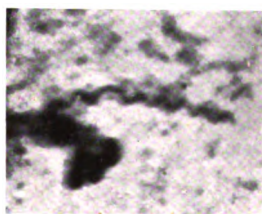


Fig. IV.

[Faint handwritten notes]

es mir, 0,025 mg Nitrit in 100 ccm Wasser sicher nachzuweisen. Ich bereitete mir eine alkoholische Lösung von α -Naphthylaminsulfat und benutzte eine schwefelsaure Lösung der Sulfanilsäure. Zu 1 ccm der Nitritlösung fügte ich 1 Tropfen der Naphthylaminsulfatlösung, dann nach 1—2 Minuten einige Tropfen Sulfanilschwefelsäure. Es trat im Laufe von 2 Minuten eine deutlich wahrnehmbare Rotfärbung ein. Vor der Jodstärkereaktion hat die eben beschriebene bekanntlich den Vorzug, daß sie nicht durch die Gegenwart von Ferrisalzen und Wasserstoff-superoxyd beeinflusst wird. Die Jodstärkereaktion kommt dadurch zu stande, daß freies Jod bei Gegenwart von Jodwasserstoff oder löslichen Jodiden Stärke blau färbt. Nach Mylius (4) ist Jodstärke die Jodwasserstoffverbindung eines Jodadditionsproduktes der Stärke mit ca. 18 Proz. Jod von der Formel $[C_{24}H_{40}O_{20}J]_n \cdot HJ$.

Zur Ausführung dieser Reaktion versetzte ich die zu prüfende Nitritlösung — 1 ccm — mit frisch制备tem Jodkalistärkekleister und säuerte dann mit verdünnter Schwefelsäure an. Es trat noch eine deutliche Reaktion ein beim Nachweis von 0,0000025 mg Nitrit in 100 ccm Wasser. Zum Vergleich wurde ein blinder Versuch ausgeführt mit destilliertem Wasser.

Zum Nachweis von Harnstoff $CO \begin{smallmatrix} \text{NH}_2 \\ \text{NH}_2 \end{smallmatrix}$ benutzt Musculus (5) ein Reagenzpapier, das in nachfolgender Weise hergestellt wird: Man tränkt Filtrierpapier mit ammoniakalischem, in Gärung befindlichem Harn, läßt trocknen, durchfeuchtet das präparierte Papier mit einem klaren Curcumauszug, läßt wieder trocknen und bewahrt das so gebrauchsfertige Papier in wohlverschlossenen Gefäßen auf. — Musculus verwandte Filter, durch die er ammoniakalischen Harn filtrierte hatte. — Es tritt eine Braunfärbung nach Angabe des Autors ein, wenn das Reagenzpapier mit einer Harnstoff haltenden Flüssigkeit benetzt wird.

Ich habe die verschiedensten Harnstoffreagenzpapiere in der oben geschilderten Weise hergestellt. Einmal benutzte ich 3 Tage alten faulenden Harn, sodann 7 Tage alten faulenden Harn und endlich sterilisierte, durch Reinkulturen in Gärung versetzte Harnproben, alle gaben mit Nessler's Reagens einen starken gelbbraunen Niederschlag. Betupfte ich dieses Harnstoffreagenzpapier mit einer Harnstofflösung 1 : 100, so trat keine Bräunung ein, dagegen bildete sich eine kaffeebraune Zone um die befeuchtete Stelle. Dieselbe Erscheinung trat ein, wenn ich Harnstofflösungen in der Verdünnung 0,0005 : 100 verwandte. Versuche, die ich darauf mit bestimmte Mengen Rohrucker, Milchezucker, Pepton und Zitronensäure haltenden Harnstofflösungen anstellte, zeigten denselben Erfolg. Ammoniak gegenüber wirkte das Reagenzpapier wie Curcupapier, es trat Bräunung ein. Die Wirkung des Musculus'schen Reagenzpapieres führe ich auch darauf zurück, daß die Harnstoffbakterien aus dem Harnstoff Ammoniak entbinden. Jedenfalls ist nach meinen Versuchen die Reaktion nicht sehr zu empfehlen, da sie keine charakteristischen Unterschiede zeigt.

Nachweisbar ist der Harnstoff in 1-proz. Lösung vorzüglich, in $\frac{1}{2}$ -proz. Lösung mit annehmbarer Sicherheit auf folgende Weise: Mischt man die zu untersuchende Flüssigkeit, z. B. den Harn, der vorher eventuell filtriert werden muß, mit einer 1-proz. Nitritlösung in einem Reagenzrohr, unterschichtet dann mit einer Pipette vorsichtig mit Schwefelsäure (verdünnt), so tritt eine Gasentwicklung ein, die nach dem Gehalt an Harnstoff mehr oder weniger stürmisch ist.

Im Prinzip kommt dieser Nachweis zurück auf eine Methode, die von Piccini (6) empfohlen wird zum Nachweis von Salpetersäure neben salpetriger Säure.

Literatur.

- 1) Griess, P., B. B. XII. 1879. p. 427.
- 2) Ilosvay v. Ilosva, Bull. chim. (3.) II. p. 317.
- 3) Merck, Reagentien.
- 4) Mylius, B. B. XX. p. 688 u. Lonnes, C., Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XXXIII. p. 409.
- 5) Musculus, B. B. CXXIV. 1874. — Henninger, A., Zeitschr. f. analyt. Chemie. XIII. XV. p. 363.
- 6) Piccini, Zeitschr. f. analyt. Chemie. Bd. XIX. p. 354.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- | | |
|---|---|
| <p>Bayer, Gustav, Zur Technik der Cytotoxinuntersuchung, p. 1.</p> <p>Bertarelli, E., Können die Stoffe des Tuberkels von den Antikörpern des Tuberkelbacillus unabhängige Antikörper erzeugen? p. 62.</p> <p>Doerr, R. und Raubitschek, H., Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege, p. 77.</p> <p>Eisenberg, Philipp, Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre. I., p. 44.</p> <p>v. Eisler, M., Ueber Einfluß der Galle, Glykoside und Farbstoffe (Benzidinderivate) auf das Lyssavirus, p. 71.</p> <p>Fermi, Claudio, Immunisierende Wirkung der normalen Hirnsubstanz verschiedener Tiere und immunisierende, lyssizide und bakterizide Wirkung des Cholesterins und des Lecithins, p. 67.</p> <p>Galli-Valerio, B. und Salomon, Vera, Die syphilitische Keratitis des Kaninchens, p. 37.</p> <p>Kühl, Hugo, Ueber die Empfindlichkeit einiger in der Bakteriologie verwendeter Reagentien, p. 94.</p> <p>Manwaring, Wilfred H., Changes in the</p> | <p>third serum component due exposure to corpuscles, p. 55.</p> <p>Paus, Nikolai N., Ueber das Wachstum der Typhus- und Colibacillen auf Nährböden, denen verschiedene organische Säuren zugesetzt sind, p. 81.</p> <p>Pitt, W., Beiträge zum regelmäßigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und in den Tonsillen gesunder Schweine, p. 33.</p> <p>Schereschewsky, J., Das Verhalten der Spirochaete pallida (Schaudinn) bei der Giemsa-Färbung, p. 91.</p> <p>Troili-Petersson, Gerda, Studien über das Wachstum des Bacterium typhosum und des Vibrio cholerae in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern, p. 5.</p> <p>Vessprémi, D., Züchtungs- und Tierversuche mit Bacillus fusiformis, Spirochaete gracilis und Cladothrix putridogenes. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. (Schluß), p. 15.</p> <p>Zebrowski, Boleslas, Sur les rapports entre la sensibilisatrice hémolytique et le précipitinogène, p. 49.</p> |
|---|---|

Nachdruck verboten.

Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé.

[Institut d'hygiène et de parasitologie de l'Université de Lausanne.
Prof. B. Galli-Valerio.]

Par le Dr. Vourloud.

Pour le diagnostic des diverses espèces bactériennes, l'attention a été toujours plus attirée ces derniers temps sur l'aspect différent des cultures en milieux sucrés et tournesolés. Aux divers composés sucrés habituels, glycose, saccharose, lactose, maltose etc., on en a ajouté une quantité d'autres. La série est alors formée, au point de vue chimique, en plus des hydrates de carbon, de glycosides, d'alcools ou de dérivés d'alcools. Malheureusement les résultats ne sont pas toujours concordants, ce qu'il faut attribuer d'abord au fait que les expérimentateurs opèrent avec des milieux de culture différents; les uns, par exemple, emploient le bouillon ou simplement l'eau peptonisée, les autres l'agar, milieux auxquels ils ajoutent un pour cent donné des divers corps sucrés.

A noter aussi que la plupart ajoutent encore au bouillon, ou à l'eau peptonisée, le plus souvent du carbonate de chaux.

Il n'y a donc pas lieu d'être surpris si l'un nie la présence de gaz, tandis que l'autre l'affirme. L'agar permet de constater la plus légère trace de gaz, la moindre bulle gazeuse devient manifeste, tandis que le bouillon est beaucoup moins sensible; une production de gaz, visible dans le premier milieu, peut parfaitement échapper à la vue dans le deuxième. Puis, pour expliquer les divergences constatées, outre la composition diverse des milieux, il ne faut jamais oublier les différences individuelles inhérentes aux bactéries elles-mêmes, suivant leur origine, selon qu'elles ont été récemment isolées de l'organisme, ou bien qu'elles sont cultivées depuis longtemps.

Sur les indications de M. le Prof. Galli-Valerio, — que je remercie très-sincèrement pour toute son obligeance et ses bons conseils, — je me suis proposé d'étudier le développement d'une série de bactéries sur agar sucré et tournesolé et dans le lait tournesolé.

Milieux nutritifs employés.

L'un des milieux nutritifs employés a été l'agar à 2%, habituellement en usage dans les laboratoires.

Les différents sucres y ont été incorporés à la dose de 1% et une solution aqueuse de tournesol ajoutée en quantité suffisante pour que le milieu soit bleu. N'ayant pas à disposition de solution aqueuse de tournesol Kahlbaum, je me suis servi d'une solution fraîchement préparée¹⁾, d'après la formule suivante:

Lacca musica 15,0 (pulvériser),

Aq. destill. 100,0,

chauffer pendant 5 minutes, laisser déposer 5 à 6 heures, décanner et filtrer. — Cette solution a parfaitement convenu.

1) Par M. Fontannaz, Pharmacien, à Lausanne.

Pratiquement, j'ai opéré comme suit: chaque flacon d'une série de 20 Erlenmeyer recevait d'abord la quantité voulue d'un des composés sucrés; l'agar, très-chaud, y était ensuite versé; immédiatement après, j'ajoutais la solution de tournesol, puis, la mise en tubes terminée, ceux-ci étaient placés à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes. A la sortie de l'autoclave, quelques rares tubes étaient décolorés dans la profondeur, la coloration s'étant accumulée à l'extrémité supérieure. Doucement secoués, avant la prise de l'agar, les tubes se sont de nouveau très-uniformément colorés.

Quant au lait tournesolé, j'ai suivi la même technique. La solution de tournesol a été ajoutée en quantité suffisante pour que le lait soit bleuâtre. Les tubes ont été mis à l'autoclave à 120° pendant 20 minutes.

Cultures.

Les tubes ensemencés, des bactéries en cultures pures, ont été placés à l'étuve pendant quatre jours; ils sont ensuite restés à la température de la chambre.

Les premières cultures faites n'ont été suivies que pendant deux jours.

Nomenclature des composés sucrés employés.

Les expériences ont porté sur 20 composés sucrés, savoir¹⁾:

- 1) Glycérine, alcool triatomique, $C_3H_5(OH)_3$.
 - 2) Erythrite, synonym. erythrol, érythromannite, alcool tétratomique, $C_4H_8(OH)_4$.
 - 3) Adonite, alcool pentatomique (pentite), $C_5H_7(OH)_5$.
 - 4) Arabinose, sucre de pectine, sucre de gomme, aldéhyde de l'alcool pentatomique, $C_5H_{10}O_6$.
 - 5) Xylose, comme l'arabinose, également aldéhyde de l'alcool pentatomique, $C_5H_{10}O_6$.
 - 6) Rhamnose, synonym. iso-dulcite; dérivé méthylé correspondant à la rhamnite qui est une pentite méthylée, $C_6H_8O_6CH_3$.
 - 7) Mannite, sucre de manne, alcool hexatomique (hexite), $C_6H_8(OH)_6$.
 - 8) Dulcite, synonym. mélanpyrite, dulcine, dulcose, évonymite; alcool hexatomique, $C_6H_8(OH)_6$.
 - 9) Sorbite, alcool hexatomique, $C_6H_8(OH)_6 + \frac{1}{2}H_2O$.
- Les 3 composés suivants sont des hydrates de C (hexoses), $C_6H_{12}O_6$:
- 10) Glycose, sucre de raisin; synonym. dextrose.
 - 11) Lévéulose, synonym. fructose.
 - 12) Galactose, synonym. lactoglycose.
 - 13) Amygdaline, glycoside, $C_{20}H_{27}NO_{11} + 3H_2O$.
 - 14) Salicine, glycoside, $C_6H_{11}O_6OC_6H_4CH_2OH$.
- De nouveau 3 hydrates de C, bioses ou disaccharides, $C_{12}H_{22}O_{11}$:
- 15) Saccharose, sucre de canne.
 - 16) Lactose, sucre de lait.
 - 17) Maltose, sucre de malt.
- Encore 3 hydrates de C, groupe de la cellulose, $C_6H_{10}O_5$:
- 18) Raffinose, synonym. mélitose, mélitriose.
 - 19) Dextrine.
 - 20) Inuline, synonym. dahline, alantine, sinistrine, héléline.

Bactéries expérimentées.

Bact. coli Escherich, 9 échantillons, 5 isolés de l'organisme, désignés comme suit:

- 1) Italie, du laboratoire de M. Galli-Valerio.
- 2) Abcès du lapin, du laboratoire de M. Galli-Valerio.
- 3) Urine de l'homme, collection de M. le Prof. Silberschmidt, à Zürich.
- 4) Matières fécales, collection de M. le Prof. Silberschmidt, à Zürich.
- 5) Coli-dysentérique²⁾, des selles d'un enfant atteint d'affection dysentérique; laboratoire.

1) Haller et Müller, Chimie organique. Paris, sans date. — Mercks Index.
2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 644.

Quatre bacilles coli isolés des eaux de cisternes du Jura vaudois et désignés sous les lettres:

- 6-9) a, b, c, d.
- 10) *Bact. acidilactici* Hüppe, collection Král.
- 11) *Bact. psittacosis* Nocard, collection Král.
- 12) *Bact. alcaligenes* Petruschky, isolé d'un abcès du rectum; laboratoire.
- 13) *Bact. dysenteriae*¹⁾, isolé de cas de dysenterie chez des enfants à Piaveda (Valteline); laboratoire.
- 14) *Bact. dysenteriae* Shiga; collection de M. Silberschmidt.
Bact. paratyphi, 3 échantillons:
- 15) *Paratyphi* A Brion; collection Král.
- 16) *Paratyphi* B Schottmüller; collection Král.
- 17) *Paratyphi* B (Zürich); collection de M. Silberschmidt.
- 18) *Bact. typhi murium* Löffler; collection Král.
Bact. typhi Eberth-Gaffky; 4 échantillons:
- 19) *Bact. typhi* (Italie); laboratoire.
- 20) *Bact. typhi* (Lausanne); laboratoire.
- 21) *Bact. typhi* (Zürich); collection de M. Silberschmidt.
- 22) *Bact. typhi* (Königsberg); collection de M. Silberschmidt.
- 23) *Bact. Hogcholera*, collection Král.
- 24) *Bact. avicidum* Kitt, *cholerae gallinarum*; collection Král.
- 25) *Bact. pseudotuberculosis rodentium* Preiss; laboratoire.
- 26) *Bact. pseudotuberculosis rodentium* Preiss; laboratoire, ces deux bactéries provenant du cobaye.
- 27) *Bact. pseudopestis*²⁾; laboratoire.
- 28) *Bact. pestis* Kitasato-Yersin; laboratoire (de Berne).
- 29) *Bact. pneumoniae* Friedländer; laboratoire.
- 30) *Bact. rhinoscleromatis*³⁾ v. Frisch; laboratoire.
- 31) *Bact. ozaenae* Abel; collection Král.
- 32) *Bact. vulgare* Hauser; laboratoire.
- 33) *Bact. vulgare* (abcès du lapin); laboratoire.
- 34) *Bact. pyocyanum* Gessard-Flügge (du pus); laboratoire.
- 35) *Bact. pyocyanum* (de maladie pyocyanique); laboratoire.
- 36) *Bac. botulinus* van Ermengem; collection Král.

Bact. coli.

Le coli a produit beaucoup de gaz. La quantité formée est appréciée comme suit dans le tableau récapitulatif suivant: très-grande quantité ++; grande quantité +; moyenne quantité =; petite quantité <; traces, 1-2-3 très-petites bulles gazeuses ...; — signifie ni gaz, ni changement de coloration du milieu (tabl. p. 100).

Pour apprécier d'une façon plus concrète la production de gaz, pour classer les sucres suivant qu'ils ont été plus ou moins fermentés, remplaçons les signes par des chiffres: ++ 5; + 4; = 3; < 2; ... 1 et prenons une moyenne; nous aurons alors:

3,9 Mannite	3,2 Arabinose	1,8 Erythrite
Lactose	3,0 Rhamnose	1,7 Raffinose
Maltose	2,9 Adonite	1,5 Amygdaline
3,8 Glycérine	2,4 Xylose	Salicine
Glycose	2,3 Dulcité	Inuline
3,7 Galactose	Dextrine	
3,5 Sorbite	2,1 Saccharose	
Lévulose		

La même appréciation appliquée aux bactéries expérimentées donne le résultat suivant:

3,9 eau c	3 eau a	2,8 eau d
3,6 abcès lapin	2,9 matières fécales	2,7 eau b
coli-dysentérique	2,85 Italie	1,75 urine homme

1) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 231.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. 1905. p. 230.

3) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 646.

	Colis de l'organisme					Colis des eaux			
	Italie	Abcès lapin	Urine	Matières fécales	Coli dysentérique	a	b	c	d
Glycérine	+	+	+	+	+	+	=	+	=
Erythrite	<	<	—	—	<	<	<	<	<
Adonite	=	+	<	<	=	=	=	+	<
Arabinose	=	+	+	=	=	=	=	+	=
Xylose	=	+	—	=	+	=	+	+	pas de gaz
Rhamnose	++	+	pas de gaz	=	=	+	=	+	<
Mannite	+	+	=	+	++	=	+	+	+
Dulcite	pas de gaz	++	+	<	+	+	pas de gaz	<	pas de gaz
Sorbite	+	+	=	+	++	<	+	+	+
Glycose	++	+	=	+	+	+	+	+	=
Lévilose	+	+	<	=	++	+	=	+	=
Galactose	+	+	<	<	++	++	+	+	=
Amygdaline	<	<	—	—	<	<	<	<	<
Salicine	<	<	—	—	<	<	<	<	<
Saccharose	<	++	...	—	++	<	<	<	pas de gaz
Lactose	++	=	=	++	+	+	+	++	<
Maltose	<	++	+	=	+	++	+	+	+
Raffinose	pas de gaz	++	+	+	<	pas de gaz	pas de gaz	=	<
Dextrine	<	=	—	=	=	=	=	=	=
Inuline	—	<	=	<	=

La quantité de gaz formée, quoique forte, est cependant variable. A noter que c'est un coli isolé de l'eau qui en donne le plus et un coli, de l'urine de l'homme, qui en donne le moins. Les colis isolés de l'organisme et ceux isolés de l'eau sont également fermentateurs.

D'une manière générale le milieu est rouge, quelquefois très-fortement dilacéré, ou bieu poussé en haut dans le tube, le gaz s'étant accumulé dans le fond de celui-ci. Le milieu se décolore ensuite plus ou moins, sans qu'il soit possible de dire que la décoloration soit en relation avec la quantité de gaz formée. En effet, avec le coli (Italie), par exemple, 1^{er} de la série, pour la lactose, où la quantité de gaz était excessive, le milieu s'est décoloré au fond du tube seulement; les trois-quarts de celui-ci se sont décolorés avec la glycose, où la quantité de gaz, tout en étant très-forte, n'était cependant pas si considérable; avec la xylose, quantité moyenne de gaz, le milieu s'est tout décoloré, seule la surface est restée rouge; enfin, avec la dulcite, qui n'a pas donné de gaz du tout, la moitié inférieure du milieu s'est décolorée.

Des constatations semblables ont été faites avec les autres types de coli.

Bien qu'ils se soient parfaitement développés dans tous les sucres, le coli (urine de l'homme) et le coli (matières fécales) n'ont produit ni gaz, ni changement de coloration du milieu, le 1^{er} avec l'érythrite, la xylose, l'amygdaline, la salicine, la raffinose, la dextrine et l'inuline; le 2^{me} avec l'érythrite, l'amygdaline, la salicine, la saccharose et la dextrine. Tous les autres ont fait plus ou moins rougir le milieu, comme il vient d'être dit.

Après que Buchner eut signalé la production de gaz, en milieu sucré, par un bacille du contenu intestinal, groupe du coli, quantité d'expérimentateurs se sont occupés de la question.

Selon Escherich et Pfaunder ¹⁾, le coli attaque glycose, lévulose.

1) Kolle u. Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorg. Bd. II. p. 349.

galactose, arabinose, xylose, rhamnose, saccharose, lactose, maltose, mannite, dulcité, sorbite, glycérine.

Drigalski et Conrad¹⁾ donnent le résultat suivant des réactions produites, après 24 heures, par le coli cultivé sur agar ordinaire tourné-solé contenant 1 % d'hydrates de C :

Glycose	rouge	Rhamnose	rouge
Lévulose	"	Saccharose	bleu
Galactose	"	Maltose	modérément rouge, ou rouge
Mannite	bleu ou partiellement rouge	Lactose	rouge
Dulcité	bleu	Amidon	bleu
Arabinose	rouge ou rougeâtre	Inuline	"
Xylose	rouge	Dextrine	"

Macé²⁾ dit que le coli donne beaucoup de gaz avec la glycose ; la fermentation est moins énergique avec la saccharose, lactose, maltose, malto-dextrine, glycérine.

D'après Chantemesse et Widal³⁾ le coli, quelle que soit son origine, fait toujours fermenter la lactose, saccharose, glycose, maltose, iso-dulcité, glycérine, érythrite, mannite.

Mac Conkey⁴⁾ dit que le coli fait fermenter glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, raffinose, lactose, mannite, sorbite, dulcité, dextrine ; il ny a pas de gaz, mais de l'acide seulement, avec la saccharose, l'amidon, l'inuline.

Le même Mac Conkey⁵⁾, dans un tableau sur « Quelques réactions attribuées au coli », indique l'opinion d'une série d'expérimentateurs : tous (23) sont d'accord pour la production de gaz dans la glycose par le coli ; pour la lactose, 16 sont affirmatifs, Ford (1901) la donne comme positive et négative, 6 n'ont pas d'indication. Quant à la saccharose, Brown R. T. (1903) donne la réaction comme positive ; 9 disent positive et négative, 12 sont sans indication.

Peré⁶⁾ dit que le coli, du nourrisson seulement, attaque la dulcité et le glycérine.

Pour Grimbert⁷⁾ l'action du coli sur la glycérine et la saccharose est négative, mais l'auteur mitige immédiatement son opinion en ajoutant : la fermentation de la saccharose par le coli est une exception, un cas sur sept.

L'action est positive sur la lactose, glycose, mannite, dextrine.

D'un travail de Capaldi et Proskauer⁸⁾ sur l'acidité produite par le Bact. typhi et le Bact. coli, il faut relever que, si l'on prend deux milieux de culture contenant l'un 0,5, l'autre 2 % de peptone Witte, qu'à chacun des milieux on incorpore 0,1 % d'un composé sucré, non seulement le développement du coli varie suivant la quantité de peptone, mais aussi la réaction : elle est acide avec la mannite et 0,5 % de peptone, tandis qu'avec le même sucre elle tend à l'alcalinité si la quantité de peptone est à 2 %. Avec la sorbite et 0,5 % de peptone, la réaction est acide ; avec 2 % de peptone la réaction est faiblement alcaline.

1) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIX. 1902. p. 283.

2) Traité pratique de bactériol. 5^e éd. Paris. p. 837.

3) Semaine médicale. 1891. p. 915.

4) Journal of Hyg. Vol. V. 1905. p. 350.

5) Journal of Hyg. Vol. V. 1905. p. 341.

6) Ann. de l'Institut Pasteur. T. XII. 1898. p. 63.

7) Ann. de l'Institut Pasteur. T. X. 1896. p. 715.

8) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIII. 1896. p. 468.

Le tableau ci-dessous résume les données des expérimentateurs précités, ainsi que les résultats du présent travail sur le coli: + signifie production de gaz; r, b milieu rouge ou bleu; — pas de gaz, pas de changement dans la coloration du milieu.

	Escherich et Pfaundler	Drigalski et Couradi	Macé Chantemesse et Widal	Mac Conkey	Peré	Grimbert	Présent travail: 9 échantillons de coli
Glycérine	+		+	+	+	—	+ r + r { deux échant. —
Erythrite			+				+ r + r + r
Adonite							+ r + r + r
Arabinose	+	r		+			+ r + r + r
Xylose	+	r					{ un échant. — un 2° pas de gaz
Rhamnose	+	r	+				+ r { un échant. pas de gaz
Mannite	+	{ b et un peu r	+	+		+	+ r
Dulcité	+	b		+	+	—	+ r { trois échant. pas de gaz
Sorbité	+	.		+			+ r
Glycose	+	r	+	+		+	+ r
Lévuiose	+	r		+			+ r
Galactose	+	r		+			+ r
Amygdaline							+ r { deux échant. —
Salicine							+ r { deux échant. —
Saccharose	+	b	+	+	—	— ¹⁾	+ r { un échant. — un 2° pas de gaz
Lactose	+	r	+	+	+	+	+ r
Maltose	+	r	+	+	+		+ r + r
Raffinose					+		+ r { un échant. — trois pas de gaz
Dextrine		b			+	+	+ r { un échant. —
Inuline		b			—		+ r { un échant. —

Lait tournesolé.

Les colis ont tous coagulé le lait dans l'espace de 2 à 4 jours, à l'exception du coli d, isolé de l'eau, avec lequel le lait s'est épaissi, a pris une consistance sirupeuse qui a persisté. Chez tous, le lait est devenu rouge, puis il s'est décoloré en totalité, — la surface exceptée toujours rouge —, ou en partie seulement, la décoloration n'affectant alors qu'un demi-centimètre de hauteur à partir du fond du tube. Le lait est ensuite redevenu rouge. Ensemencé les 16, 25 déc. 1906 et 19 janv. 1907, le lait constituait encore, le 18 avril 1907, une masse rouge, à l'exception du coli d, toujours sirupeux, mais également rouge.

1) Voir plus haut, opinion de Grimberty.

Bact. acidi lactici.

Le Bact. acidi lactici est fermentateur dans le genre du coli. Il a produit une quantité plus ou moins grande de gaz; le milieu est devenu rouge ou rougeâtre, quelquefois un peu décoloré. Il a repris la coloration bleue ou bleuâtre, au bout de 8 jours avec l'adonite, la xylose, la sorbite et la raffinose. Voici le sommaire de la culture:

	Gaz	Milieu
Glycérine	très-grande quantité	rougeâtre et décoloré
Adonite	moyenne quantité	redevenu bleuâtre
Arabinose	" "	rouge
Xylose	" "	redevenu bleuâtre
Rhamnose	" "	rouge
Mannite	" "	"
Sorbite	" "	redevenu bleuâtre
Glycose	" "	rouge
Lévilose	" "	"
Lactose	" "	"
Maltose	" "	rougeâtre
Raffinose	" "	redevenu bleuâtre
Galactose	petite quantité	" "

Aucun changement avec érythrite, dulcité, amygdaline, salicine, saccharose, dextrine et inuline.

Lehmann et Neumann¹⁾ disent que le Bact. acidi lactici fait fermenter énergiquement la glycose et la lactose. Pour Grimbert²⁾, il n'attaque ni la saccharose, ni la dulcité. D'après Mac Conkey³⁾, il produit gaz et acide avec glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, raffinose, lactose, mannite, sorbite et dextrine; il laisse indemne la saccharose, la dulcité et l'inuline.

Ces derniers résultats correspondent à ceux présentés par le bacille expérimenté, à l'exception de la dextrine qui n'a pas changé.

Lait tournesolé.

Le Bact. acidi lactici a coagulé le lait le 5^{me} jour, puis celui-ci s'est décoloré comme chez le coli pour redevenir ensuite rouge. Ensemencé le 11 février 1907, le 18 avril il constituait encore un coagulum rouge.

Bact. psittacosis.

C'est également un fermentateur. Partout où il y a eu production de gaz le milieu est devenu rouge ou rougeâtre; la coloration a persisté, ou bien le milieu est redevenu bleuâtre. Voici du reste le résultat de la culture:

	Gaz	Milieu		Gaz	Milieu
Arabinose	grande quantité	rouge persistant	Rhamnose	Petite quantité	rouge persistant
Mannite	" "	" "	Lévilose	" "	" "
Glycose	" "	" "	Galactose	" "	" "
Maltose	" "	redevenu bleuâtre	Glycérine	" "	" "
Dulcité	moyenne quantité	" "	Saccharose	traces	redevenu bleuâtre
Sorbite	" "	" "	Raffinose	" "	" "

1) Atlas u. Grundriß der Bakt. 3. Aufl. p. 313.

2) Annales de l'Institut Pasteur. Vol. X. 1896. p. 708.

3) Loc. cit. p. 350.

Pas de changement: érythrite, adonite, xylose, amygdaline, salicine, lactose, dextrine et inuline.

Pour Macé¹⁾, le bacille de la psittacose est sans action sur les sucres, la lactose en particulier.

D'après Mac Conkey²⁾, le Psittacosis fait fermenter glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, raffinose, mannite, dulcité, sorbite et dextrine.

Ces résultats concordent avec ceux du bacille expérimenté, à l'exception de la dextrine avec laquelle il n'y a pas eu de changement.

Lait tournesolé.

Le Bact. psittacosis n'a pas coagulé le lait qui est demeuré bleuâtre. Ensemencé le 11 février 1907, le 18 avril le tiers inférieur du tube était décoloré, les deux tiers supérieurs bleuâtres.

Bact. alcaligenes.

Aucune trace de gaz. Le milieu est rouge, plus ou moins décoloré, avec glycérine, arabinose, xylose, lévulose et galactose.

Les autres sucres sont sans changement, ce qui correspond, partiellement du moins, à l'opinion de Lehmann et Neumann³⁾ qui regardent l'Alcaligenes comme un coli qui a perdu la propriété de décomposer les sucres.

La même opinion est exprimée par Neufeld⁴⁾ d'une façon plus accentuée: l'Alcaligenes... „der überhaupt keine Zuckerart zersetzt“.

Lait tournesolé.

Le Bact. alcaligenes n'a pas coagulé le lait. Cinq jours après l'ensemencement, celui-ci était complètement décoloré, puis il est redevenu violet-lilas-foncé avec léger dépôt blanc-grisâtre.

Bact. dysenteriae.

Piaveda (Valteline).

Aucune trace de gaz. Le milieu devient rouge ou rougeâtre, avec ou sans décoloration partielle, seulement avec les sucres qui suivent:

arabinose,
xylose,
rhamnose,
lévulose,
galactose.

Shiga.

Aucune trace de gaz. Le milieu rougit, sans décoloration subséquente, avec:

glycérine,
arabinose,
glycose,
lévulose,
galactose,
saccharose,
raffinose.

Les autres sucres ne subissent aucun changement ni chez l'un, ni chez l'autre des deux types expérimentés.

Otto Lentz⁵⁾ dit que le Bact. dysenteriae ne donne pas de fermentation avec la glycose.

Le même auteur⁶⁾ donne les résultats suivants pour la culture de 48 heures du Bact. dysenteriae Shiga, sur le milieu de Drigalski-Conradi: avec la maltose, le dessus du tube est sans changement, le fond est éclairci; avec la dulcité, l'inuline, la mannite, aucun changement; avec la dextrine, le milieu devient rouge-violet; avec la fructose, rouge au-dessus, plus clair dans la partie inférieure. Pas trace de gaz.

1) Loc. cit. p. 861.

2) Loc. cit. p. 350.

3) Loc. cit. p. 285.

4) Kolle et Wassermann. Handb. der pathog. Mikroorg. Vol. II. p. 214.

5) Kolle et Wassermann. Handb. der pathog. Mikroorg. Vol. II. p. 309.

6) Zeitschr. für Hygiene. Vol. XLI. 1902. p. 560.

D'après Mac Conkey¹⁾, le Shiga produit de l'acide, mais pas de gaz, avec glycose, lévulose, maltose, galactose et raffinose.

Suivant Dopfer²⁾, le Shiga-Kruse n'a aucune influence sur la lactose, la mannite, la maltose, la saccharose.

Lait tournesolé.

Les deux Bact. dysenteriae expérimentés n'ont pas coagulé le lait. Avec le Piateda, la coloration était bleu-foncé, léger dépôt blancâtre; avec le Shiga, violet-bleu, dépôt jaunâtre.

Bact. paratyphi.

Les paratyphiques expérimentés ont donné du gaz en plus ou moins grande abondance; la quantité est appréciée dans le tableau qui suit, les signes d'appréciation sont les mêmes que pour le coli.

	Parat. A	Parat. B	Parat. B (Zürich)
Glycérine	=	=	=
Erythrite	pas de gaz	<	<
Adonite	pas de gaz	=	pas de gaz
Arabinose	pas de gaz	pas de gaz	=
Xylose	=	=	pas de gaz
Rhamnose	=	=	=
Mannite	=	=	++
Dulcité	<	+	=
Sorbité	<	pas de gaz	+
Glycose	=	++	=
Lévulose	=	++	=
Galactose	pas de gaz	+	=
Amygdaline	pas de gaz	=	—
Salicine	<	=	—
Saccharose	<	=	<
Lactose	=	<	<
Maltose	<	+	<
Raffinose	pas de gaz	=	<
Dextrine	pas de gaz	=	—
Inuline	<	=	—

Les trois paratyphiques ont fait rougir le milieu qui se décolore ensuite plus ou moins avec la plupart des sucres. La paratyphique A est moins producteur de gaz que le paratyphique B, et des deux types B, celui de Zürich en a le moins donné.

Le parat. A n'a pas donné de gaz avec érythrite, adonite, arabinose, galactose, amygdaline, raffinose et dextrine, mais le milieu était rouge partout.

Le parat. B n'a pas donné de gaz avec arabinose et sorbite seulement, mais le milieu était rouge. Le parat. B (Zürich) n'a produit ni gaz, ni changement de coloration avec amygdaline, salicine, dextrine et inuline; pas de gaz non plus avec adonite et xylose, mais le milieu était rouge; suivi plus longtemps que les deux autres, le milieu est redevenu bleuâtre avec érythrite, dulcité, sorbite, saccharose, lactose, maltose et raffinose.

D'après Mac Conkey³⁾, A et B Schottmüller donnent l'un et l'autre du gaz en glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, raffi-

1) Loc. cit. p. 350.

2) Bulletin de l'Institut Pasteur. 1906. p. 9.

3) Loc. cit. p. 350.

nose, mannite, sorbite, dulcité, dextrine; rien avec la lactose et la saccharose.

Selon Kayser¹⁾, A et B font fermenter la glycose et la maltose; B seulement fait fermenter la lactose.

Pour Korte²⁾, un type B fait fermenter la glycose et la lactose, moins cette dernière, la saccharose reste sans changement.

Suivant un récent travail de Du camp³⁾ (Thèse de Lille, 1907), le parat. B fermente arabinose, mannite, sorbite, glycose, lévulose, galactose, maltose, xylose, dulcité, mannose; il est inactif sur la glycérine, l'érythrite, la lactose, la saccharose et la raffinose. Le parat. A présente les mêmes propriétés, sauf pour xylose, mannose, dulcité.

Lait tournesolé.

Les 3 paratyphiques n'ont pas coagulé le lait. Les parat. A et B (collection Král), d'abord décolorés, sont redevenus bleus; le parat. B (Zürich) est resté bleu, sans décoloration.

Chez les 3 types, la coloration s'est peu à peu foncée.

Boycott⁴⁾, au sujet de 3 paratyphiques qu'il a expérimentés dans le lait tournesolé, s'exprime comme suit: 2 parat. A produisaient une acidité permanente sans coagulation. A deux occasions, les 2 échantillons sont devenus fortement alcalins après deux mois; Boycott ajoute que Libmann aurait eu le même résultat avec un Schottmüller.

Un parat. B a produit au début une légère acidité suivie à un intervalle de 2 à 14 jours d'une alcalinité croissante.

Bact. typhi murium.

Le Bact. typhi murium est un fermentateur comme le coli, du moins le type expérimenté. Le milieu est devenu rouge ou rougeâtre, quelquefois avec une légère décoloration subséquente. La quantité de gaz a été la suivante:

	Gaz		Gaz
Rhamnose	très-grande quantité	Glycérine	moyenne quantité
Mannite	grande quantité	Erythrite	petite quantité
Dulcité	" "	Xylose	" "
Glycose	" "	Galactose	" "
Adonite	moyenne quantité	Amygdaline	" "
Arabinose	" "	Salicine	" "
Sorbite	" "	Dextrine	" "
Lévulose	" "	Inuline	" "
Lactose	" "	Saccharose	traces
Maltose	" "	Raffinose	nulle

Löffler⁵⁾ dit que le Typhi murium produit acide et gaz avec la saccharose.

D'après Lehmann et Neumann⁶⁾, il donne beaucoup d'acide avec la glycose, mais pas de gaz, tandis qu'au contraire un 2^{me} type donnait du gaz; pas d'acide, pas de gaz avec la lactose.

D'après Toyama⁷⁾, forte production de gaz avec la saccharose.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. 1903. p. 154.

2) Zeitschr. für Hygiene. Bd. XLIV. 1903. p. 253.

3) Cité dans Bulletin Institut Pasteur. 1907. p. 522.

4) Journal of Hygiene. Vol. VI. 1906. p. 40.

5) Centralbl. für Bakt. etc. Bd. XI. 1892. p. 133.

6) Loc. cit. p. 283.

7) Centralbl. für Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 280.

Lait tournesolé.

Le Bact. typhi murium n'a pas coagulé le lait qui est resté bleu avec léger dépôt blanchâtre.

Comme le typhique, le Typhi murium laisse le lait liquide et alcalin, disent Lehmann et Neumann (p. 283).

Le lait ne change pas d'aspect, mais prend une réaction fortement acide, écrit Macé (p. 918).

Bact. typhi.

Aucune trace de gaz. Voici le résumé des réactions qu'a présentées le milieu avec les 4 typhiques expérimentés (R = milieu rouge; — pas de changement):

	Italie	Lausanne	Zürich	Königsberg		Italie	Lausanne	Zürich	Königsberg
Glycérine	R	R	R	R	Lévulose	R	R	R	R
Erythrite	—	—	—	—	Galactose	R	R	R	R
Adonite	—	—	—	—	Amygdaline	—	—	—	—
Arabinose	R	R	{ R redevient bleu	R	Salicine	—	—	—	—
Xylose	R	R	R	R	Saccharose	{ R surface bleue	{ R bleue	—	—
Rhamnose	R	R	—	—	Lactose	{ R surface bleue	{ R bleue	{ R redevient bleu	{ R R
Mannite	R	R	R	R	Maltose	R	R	R	R
Dulcite	—	—	—	—	Raffinose	—	—	—	—
Sorbite	R	R	R	R	Dextrine	R	R	—	—
Glycose	R	R	R	R	Inuline	—	—	—	—

Par leurs réactions, les typhiques Italie et Lausanne sont semblables. Ils ont rougi le milieu avec glycérine, arabinose, xylose, rhamnose, mannite, sorbite, glycose, lévulose, galactose, saccharose, lactose, maltose, dextrine.

Sont restés sans changement: érythrite, adonite, dulcite, amygdaline, salicine, raffinose, inuline.

Les deux types Zürich et Königsberg sont aussi semblables entre eux; ils diffèrent des deux précédents par le fait qu'ils n'ont pas attaqué rhamnose, saccharose et dextrine. Remarquons, en passant, que chez les 4 types la lactose a rougi.

Or, d'après l'opinion généralement admise, la lactose n'est pas attaquée par le Bact. typhi¹⁾, mais bien glycose, lévulose, galactose, que ainsi les hydrates de C rapprochés, mannite.

Conradi et Drigalski²⁾ donnent la tablelle suivante pour les cultures de 24 heures du Bact. typhi sur agar sucré 1% et tournesolé:

Glycose	rouge	Rhamnose	bleu
Lévulose	"	Saccharose	"
Galactose	rouge ou fortement rouge	Maltose	rougeâtre ou rouge
Mannite	rouge	Lactose	bleu
Dulcite	bleu	Amidon	"
Arabinose	"	Inuline	"
Xylose	rougeâtre ou rouge	Dextrine	violet-bleu

Selon Mac Conkey³⁾, le typhique rougit le milieu avec glycose, lévulose, galactose, maltose, raffinose, mannite, sorbite, et dextrine.

1) Kolle et Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorg. Vol. II. p. 214.

2) Zeitschr. für Hygiene. Vol. XXXIX. 1902. p. 283.

3) Loc. cit. p. 350.

Boycott¹⁾ dit que la raffinose n'est pas attaquée.

D'après Conradi, Drigalski et Jürgens²⁾, le typhique attaque lévulose, érythrite, galactose, mannite, dulcite, maltose, raffinose et inuline.

Les 4 types expérimentés ont donc attaqué la lactose, mais il est bon d'observer que si le milieu a rougi, la surface est restée bleue. En outre, chez les deux types Zürich et Königsberg, qui ont été suivis plus longtemps, le milieu est redevenu bleu; ces derniers ont produit le même phénomène avec l'arabinose, mais ils n'ont pas attaqué la saccharose, tandis que les deux typhiques, Italie et Lausanne, ont fait rougir le milieu saccharosé, mais la surface est restée bleue.

Il y a donc formation d'acide dans la partie profonde du tube, mais non pas à la surface. L'acidité disparaît du reste assez vite et le milieu redevient bleu en totalité. En tout cas, ce résultat ne porte aucune atteinte à la réaction différentielle coli-typhique de Wurtz, sur agar lactosé tournesolé, puisque celle-ci se pratique en ensemençant par stries, c'est-à-dire en surface qui est bien restée bleue dans le cas particulier.

Lait tournesolé.

Le Bact. typhi n'a pas coagulé le lait. Les typhiques Italie, Lausanne et Königsberg ont donné une coloration bleu-foncé; le typhique Zürich est resté lilas. Ensemencé le 16 décembre 1906, et 19 janvier 1907, le lait était encore bleu-foncé et lilas le 18 avril 1907.

Boycott³⁾, qui a cultivé 4 typhiques dans le lait tournesolé, dit qu'ils différaient quelque peu. Tous produisaient une acidité prononcée en 24 heures; mais 2 échantillons, en 9 jours, un 3^{me} en 15 jours, étaient nettement alcalins; le 4^{me} ne l'était pas du tout après un mois d'incubation.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bemerkungen zu der Frage, ob *Bacillus anthracis* Geißeln bildet und Hüllen hat.

[Aus der Prosektur des Kaiser Franz Josef-Spitals in Wien.

Vorstand: Prof. Dr. Kretz.]

Von Dr. A. Hinterberger, Wien.

Mit 1 Tafel.

Ich habe auf p. 424 des 30. Bandes dieser Zeitschrift gesagt, daß ich bei Milzbrandbacillen Geißeln gesehen habe, daß ich aber noch nicht genügend untersucht habe, um ein sicheres Urteil abgeben zu können, ob Milzbrandbacillen wirklich Geißeln haben oder nicht. Ich habe dann lächerlich lange Zeit auf alle mögliche Weise versucht, Klarheit zu bekommen, besonders da die Bildung von Geißeln unter bestimmten Bedingungen bei Milzbrandbacillen mir deshalb wahrscheinlich schien, weil die von mir bei diesen Bacillen als „Mycele“ benannten und beschriebenen Fadennetze sonst noch bei Organismen vorkommen, welche für gewöhnlich Geißeln bilden (*Bac. typhi*, *Megatherium*, *pyocya-*

1) Loc. cit. p. 38.

2) Zeitschr. für Hygiene. Vol. XLII. 1903. p. 141.

3) Loc. cit. p. 40.

neus¹⁾, pyogenes foetidus, *Micrococcus agilis* etc.). Ich habe aber bisher immer nur Andeutungen von geißelartigen Fäden gesehen, jedoch noch nie sichere Geißeln, wenigstens nicht bei durch den Tierversuch als Milzbrandbacillen festgestellten sporenbildenden Stämmen.

In letzter Zeit erhielt ich eine etwa 13 Jahre alte Milzbrandkultur, welche im Wiener Hofmuseum in zugeschmolzener Eprouvette in einer demselben von Dozent Král im Jahre 1894 gespendeten, also heute für manche Untersuchungen vielleicht recht wertvollen Sammlung war. Als ich von einer jungen Agarkultur dieses Stammes etwas in physiologischer Kochsalzlösung emulgierte und mit kolloidalem Silber²⁾ färbte, erhielt ich Bilder von den von mir bereits veröffentlichten „Hüllen“ dieses Organismus und konnte deutlich sehen (wie auch auf dem beigegebenen ersten Photogramme ersichtlich ist), daß diese Hüllen eine mehrfache, relativ leicht zerreißeiche Kontur haben.

Das gleiche Resultat ergaben zwei weitere vom Wiener hygienischen Institute mir freundlichst zur Verfügung gestellte Stämme.

Sobald diese Hüllen selbst ungefärbt oder schwach gefärbt bleiben (wie dies bei Emulsion in gewöhnlichem Wasser der Fall zu sein pflegt) und diese Konturen daher als Stücke frei im Gesichtsfeld erscheinen oder gar Bacillenkörpern zufällig anliegen, können sie sehr leicht für Geißeln oder Stücke von Geißeln gehalten werden. Nur ihre Gestalt, welche meist geradlinig oder schwach oder unregelmäßig gekrümmt ist, selten aber gewellt erscheint und auch dann nicht so regelmäßige Windungen zeigt wie sonst die echten Geißeln, warnt vor dieser Annahme, da ja die Zustände, wo sonst Geißeln gestreckt erscheinen, wie z. B. Kälte- oder Wärmestarre der Geißeln doch nicht regelmäßig ohne erkennbaren Grund eintreten können.

Diese Konturen sind vielleicht auch das, was Migula im ersten Bande seines Werkes „System der Bakterien“, p. 125 als Schleimfäden, welche von der verquellenden Bakterienmembran ausgehen, bezeichnete und von Geißeln richtigerweise unterschied. Die Fadennetze, welche ich seinerzeit „Mycele“ nannte, sind aber mit diesen Fäden wohl nicht identisch und dürften auch mit diesen Hüllen nichts zu tun haben. Ich hebe das deshalb hervor, weil mir wiederholt die Ansicht bekannt wurde, daß diese „Mycele“ nichts anderes seien, als ausgezogene Schleimfäden u. dergl.

Für mich spricht die bessere Färbbarkeit und die eigentümliche Anordnung sowie das Auftreten dieser Fadennetze (Mycele), sobald die Organismen auf wasserärmeren Nährböden gezogen werden, für die Annahme eines Gebildes sui generis, obwohl ich nicht in Abrede stellen will, daß es ganz gut möglich ist, daß weitere Untersuchungen mich zu einer anderen Ansicht bringen könnten.

Eine andere Frage ist es, was diese „Hüllen“ sind. Ich hatte seinerzeit noch keine deutliche Kontur dieser „Hüllen“, geschweige denn eine mehrfache Kontur derselben gesehen, wohl aber Faltungen der Hüllen quer gegen den Bacillenkörper und auch einigemal eine Hälfte derselben schief umgeschlagen und über den Bacillus gelegt. Nachdem ich aber jetzt Konturen und vor allem mehrfache, am Rande nahe beieinander liegende Konturen dargestellt habe, verhalte ich mich gegen die Annahme einer Quellungerscheinung nicht mehr ablehnend, denn die Fal-

1) Reitmann u. Hinterberger, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 169.

2) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXVII. p. 597.

tungen können ja auf der Wirkung der bei den ersten Versuchen zum Erscheinen der „Hüllen“ angewendeten Ammoniakbedampfung beruhen, indem die durch den Fixierungsprozeß flach aufgeklebte Schicht streifenweise von der Glasfläche durch die Imbibition mit ammoniakalischem Wasserdampf abgehoben wird, während die Umklappungen sehr leicht als teilweise Ablösung der Schicht in ihrer ganzen Breite vom Deckglas und nachträgliche Umlegung durch die Bespülungen beim Färbeprozeß erklärbar sind.

Die durch die Emulsion in physiologischer Kochsalzlösung sichtbar werdende mehrfache Kontur am Rande dieser „Hülle“ macht aber eine anfängliche Quellung oder Lösung der Kapselmembran und nachherige Konturenbildungen durch successive Eintrocknung der Randpartieen der gequollenen oder gelösten Substanzen geradezu wahrscheinlich.

Es könnte auch unter dem Einflusse der Kochsalzlösung aus der Kapsel der Bacillen etwas in einen gequollenen Teil der Kapsel, also wohl in die gequollene Kapselgrenze diffundieren und diese dadurch färbbar machen und wieder beim Eintrocknen auf dem Deckglase die mehrfache Kontur erzeugen.

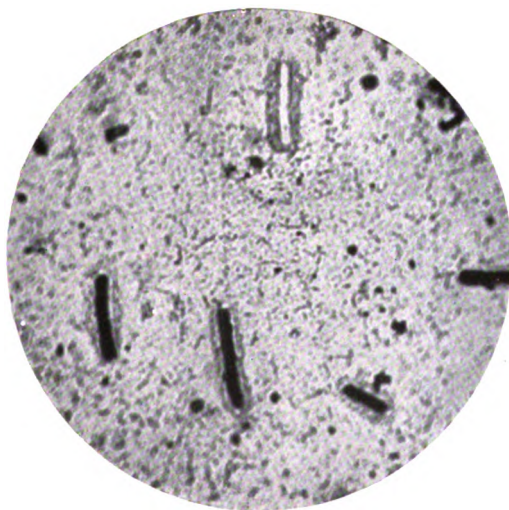
Daß es mir seinerzeit gelang, durch Bedampfung der (mit einer in Wasser emulgierten Milzbrandbacillenkultur) beschickten und fixierten Deckgläschen mit Ammoniak diese Bilder zu bekommen, ist dadurch erklärlich, daß die „Hüllen“ oder gequollenen Kapselmembranen Ammoniak aufnehmen und durch die hiermit erhaltene Alkaleszenz sich leichter mit kolloidalem Silber färbten.

Dieses Diffundieren in eine gequollene Substanz, ja die eigentliche Quellung selbst findet wahrscheinlich erst auf dem Deckglase selbst statt, und zwar durch die beim Eintrocknen der Emulsionsflüssigkeit sich konzentrierende Salzlösung. Sonst wäre ja das Erhaltenbleiben dieser gewiß sehr zarten Gebilde in flacher Form beim Aufstreichen auf das Deckglas doch nur unter der Annahme, daß es wirkliche „Hüllen“ sind, erklärbar.

Es ist ja auch bei Emulsion in Wasser wohl immer etwas, wenn auch wenig Kochsalz in der Flüssigkeit enthalten, da ja der Nährboden kochsalzhaltig ist.

Eine weitere Stütze der Möglichkeit, daß diese Bilder Lösungs- oder Quellungserscheinungen sind oder solche vorausgehen, liegt darin, daß man die Hüllen auch ohne Bacillenkörper sieht, aber die Lücke des Bacillenkörpers deutlich erhalten und scharf abgegrenzt finden kann. Wenn das Wasser oder die physiologische Kochsalzlösung, während sie sich beim Eintrocknen auf dem Deckglase konzentriert, von außen an der Kapsel des Bacillus etwas löst oder quillt, kann diese dünne Schicht gelöster oder gequollener Substanz bei vorsichtiger Fixierung ganz gut fest geworden sein, der Bacillenkörper aber noch nicht, so daß zwar dieser bei der Prozedur des Färbens weggespült wird, die Hülle oder die eine Hülle vortäuschende gelöste oder gequollene Kapselsubstanz und die eventuell aus der Kapsel in diese Substanz diffundierte Masse aber nicht. Es kann ja gerade ein Lösungsprozeß das Herausfallen eines Bacillenkörpers aus seiner Kapsel sehr unterstützen. Das zweite Photogramm zeigt eine gequollene oder teilweise gelöste Kapsel ohne Bacillenkörper, aber mit genauer Andeutung des Platzes, den er vorher inne hatte.

Wien, im Juni 1907.



Nachdruck verboten.

Beiträge zum regelmässigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und in den Tonsillen gesunder Schweine.

[Aus dem Königl. hygienischen Institut der Universität in Königsberg Pr.
(Direktor: Prof. R. Pfeiffer).]

Von **W. Pitt**, städtischem Tierarzt zu Königsberg Pr.

(Schluß.)

Daß es aber doch gelegentlich gelingt, durch subkutane Impfung von Mäusen mit Teilen der Pfröpfe den Rotlaufbacillus zu isolieren, zeigt folgender Versuch, der gleichzeitig als Beweis dafür dienen kann, wie äußere Einflüsse, z. B. das Eintreten großer Hitze, die Virulenz des Rotlaufregers steigern können.

Als im Monat Juni 1906 plötzlich eine drückende Hitze eintrat, impfte ich 8 Mäuse subkutan mit Partikeln von 8 Pfröpfen aus den Ileocökaltaschen 8 verschiedener Därme, die von durchaus gesunden Schweinen stammten. Ich hebe das Wort „gesund“ hervor, weil die Witterung für Rotlauferkrankungen disponierte und an Rotlauf erkrankte Schweine in ihrem Kot zahlreiche Rotlaufbacillen beherbergen. Bakterioskopisch waren in den Pfröpfen nur wenige grampositive, den Rotlaufbacillen ähnliche Stäbchen nachzuweisen. Von den 8 Mäusen gingen 6 an typischem Rotlauf ein.

Das klinische Krankheitsbild gestaltete sich folgendermaßen: Nach 24 Stunden tritt offensichtliche Erkrankung ein. Die Tiere sitzen zusammengekrümmt, traurig und apathisch da. Das Deckhaar ist gestäubt. Es macht sich eine katarrhalische Conjunctivitis geltend, die bald eitrig wird, so daß die Augenlider förmlich verkleben. Dazu kommt eine Obstipatio. Der Tod tritt am 4. Tage unter Lähmungserscheinungen ein.

Die Sektion der verendeten Tiere ergibt übereinstimmend folgendes Resultat: Impfstelle ödematös durchtränkt, Ausstrichpräparate aus ihr zeigen zahlreiche, feine, grampositive Stäbchen. Das Rectum ist prall mit Kotmassen gefüllt, der Dünndarm gerötet, die Milz um das 2-fache vergrößert, dunkelrot, Nieren, Leber und Herz getrübt.

Bakterioskopischer Befund: Ausstrichpräparate aus Nieren und Milz lassen unter dem Mikroskop bei 900-facher Vergrößerung bei Färbung mit Methylenblau oder Karbolfuchsin kleine, äußerst schlanke Stäbchen erkennen, die beim Aufsuchen wegen ihrer Feinheit dem ungeübten Auge entgehen können. Die Färbung nach Gram fällt positiv aus. Man sieht auf rotem Hintergrund (Karbolfuchsin als Gegenfärbung) tief blau gefärbte, schlanke Stäbchen, die besonders in Blutaussstrichen ein klein wenig dicker als die einfach gefärbten erscheinen. Es fällt die Affinität der Bacillen zu den Leukocyten auf. Oft liegen sie in Haufen in diesen Zellen.

Züchtung auf und in künstlichen Nährböden:

a) In Bouillon: Nach 24 Stunden tritt eine Trübung ein, nach ca. 48 Stunden Klärung. Die Bacillen senken sich und bilden auf dem Grunde des Glases eine schleimige Masse. Der Geruch der Bouillonkulturen ist in den ersten Tagen ein etwas an Eiweißfäulnis erinnernder.

Oft entstehen durch Zusammenlegen der Bakterien wellige Fäden. In einem aus Bouillonkultur hergestellten hängenden Tropfen kann nur molekulare, keine Eigenbewegung festgestellt werden;

b) Auf Kartoffel: Bei der Aussaat von Blut gehen keine Kolonien auf.

c 1) in Nährgelatine (Plattenverfahren): Es gehen nach 2 Tagen Kolonien auf, die makroskopisch wie kleine, äußerst zarte Schneeflocken aussehen. Unter dem Mikroskop bei 50-facher Vergrößerung zeigen diese Kolonien ein sehr fein granuliertes Zentrum, von dem nach allen Richtungen unregelmäßig gekrümmte Fäden von größter Feinheit ausstrahlen und die Gelatine durchwuchern. Letztere wird nicht verflüssigt, sondern nur durch die Kolonien ein wenig erweicht. Es macht sich daselbst eine geringe Einsenkung bemerkbar;

c 2) in Nährgelatine (Stichkultur): Von einem feinen, weißlichen Faden (Stichkanal) strahlen nach allen Richtungen kleine weiße Flocken aus, die sich von Tag zu Tag weiter ausbreiten und die ganze Gelatine durchwuchern. Vom 3. Tage ab ist üppiges Wachstum deutlich bemerkbar, nach ca. 8 Tagen die bekannte Gläserbürstenform. Am Beginne des Stiches Bildung einer kleinen Blase, Gelatine wird gleichfalls nicht verflüssigt;

d) auf Agar gehen nach ca. 18 Stunden feine, tautropfenähnliche, dem ungeübten Auge kaum sichtbare Kolonien auf, die sich bei dichter Besäung gar nicht vergrößern. Sie sind strukturlos;

e) auf Blutserum: Die aufgegangenen Kolonien sind denen auf Agar ähnlich. Ausstrichpräparate von sämtlichen Kulturen zeigen die Bakterien als kleine, dünne Stäbchen, in der Form etwas dicker und länger als die aus dem Tierkörper, eine Erscheinung, wie sie auch bei anderen Bakterien beobachtet worden ist. Die auf Blutserum gewachsenen Bacillen sind besonders lang.

Durch Verimpfung von Organstückchen oder Blut der an Rotlauf verendeten Mäuse auf andere kann der Bacillus weitergezüchtet und seine Virulenz gesteigert werden, so daß die Impftiere bereits nach 2 Tagen der Infektion erliegen. Die Kulturversuche ergeben stets dieselben soeben beschriebenen typischen Kolonien, wie wir sie bei echtem Rotlauf sehen.

Reinkulturen, sei es aus Bouillon, Gelatine, von Agar oder Blutserum, töten Mäuse unter den vorher beschriebenen klinischen Erscheinungen.

Die Autopsie gibt dasselbe Bild wie zuvor. Die Züchtung auf künstlichen Nährböden zeigt die dem Rotlaufbacillus typischen Kolonien. Es werden 2 Mäuse mit Prenzlauer Rotlaufserum immunisiert und dann die eine mit einer Oese Agarkultur, die andere mit einer Oese Bouillonkultur infiziert, in gleicher Weise und zur selben Zeit 2 Kontrollmäuse. Letztere sterben den 4. Tag an den Folgen der Infektion; Kulturen und Nachweis der Bacillen in Ausstrichen ergeben die bereits beschriebenen Resultate. Die immunisierten Mäuse bleiben am Leben.

Da es verhältnismäßig selten gelingt, durch die subkutane Verimpfung des Versuchsmaterials die rotlaufähnlichen Bacillen nachzuweisen, so wird fortan die Impfstelle jeder toten Maus subkutan auf eine andere Maus übergeimpft, sofern sich nur in Ausstrichpräparaten diese Bacillen vorfinden.

Waren genügend von diesen grampositiven Stäbchen vorhanden, so daß sie nicht im Kampfe gegen andere, besonders ovoide Bakterien unterlagen, so gingen die Versuchsmäuse fast immer an einer Krankheit ein, wie sie der Rotlaufinfektion eigen ist. Manchmal starben sie an einer Mischinfektion. Durch Verimpfung von Organstückchen konnte auch dann der den Rotlaufstäbchen ähnliche Bacillus isoliert werden.

Die mit solchen Impfstellen infizierten Versuchstiere sterben nach 4—6 Tagen. Die verschieden lange Dauer der Krankheit ist wohl auf die verschiedene Menge der einverleibten Bakterien und Virulenzschwankungen zurückzuführen. Die klinischen Erscheinungen der Krankheit, das Ergebnis der Sektion der eingegangenen Tiere, der bakteriologische Befund, das Wachstum der Kulturen und ihre Pathogenität gleichen in allen Stücken den Befunden, wie sie vorher von mir genau beschrieben worden sind. Durch diese Methode gelang mir, sobald die Menge der Bakterien genügte, sogleich die Reinzüchtung dieses dem Rotlaufstäbchen gleichenden Bacillus. Daß die Zahl der positiven Resultate eine im Gegensatz zu den primären Impfversuchen recht bedeutende ist, lehrt die Vergleichung der beiden Impftabellen.

I. Impftabelle.

Subkutane Impfung mit Teilen der Pfröpfe aus den Ileocökaltaschen.

Anzahl der untersuchten Schweine	Anzahl der geimpften Mäuse	Ausfall der Impfung
20	40	20 † an Mikokokkeninfektion (ovoide Bakterien, Bacterium coli und 2 davon durch Staphylokokken) 20 bleiben am Leben
10	10	5 † an ovoiden Bakterien
6	12	1 † an Rotlaufstäbcheninfektion 4 bleiben leben 12 bleiben leben
8	8	6 † an Rotlaufbacillen 2 † an ovoiden Bakterien
4	4	1 † an Rotlaufstäbchen 2 † Bacterium coli commune 1 † bleibt am Leben
8	16	10 bleiben am Leben 4 † an ovoiden Bakterien 2 † an Rotlaufbacillen
10	10	2 † an Rotlaufbacillen 1 † „ „ u. ovoiden Bakterien (Mischinfektion) 7 bleiben gesund
66	100	13 † an Infektion durch Rotlaufbacillen 33 † „ „ „ andere Mikroorganismen
		54 bleiben am Leben.

II. Impftabelle.

Subkutane Impfung mit der Impfstelle solcher Mäuse, die daselbst den Rotlaufstäbchen ähnliche Bacillen beherbergen.

Anzahl der untersuchten Impfstellen	Anzahl der geimpften Mäuse	Ausfall der Impfung
5	5	5 † an Rotlaufstäbchen
2	2	1 † „ „
5	5	4 † „ „
3	3	3 † „ „
15	15	13 † an Infektion durch Rotlaufbacillen wie oben 2 † „ „ „ ovoiden Bakterien.

Wir haben es hier also mit einer sehr brauchbaren Methode zu tun, die uns in den Stand setzt, aus der negativen primären Impfung recht oft eine positive sekundäre zu machen.

Gleichzeitig mit den Impfungen gingen die Versuche, durch Isolierung auf künstlichen Nährböden die Rotlaufbacillen zu züchten. Versuche, durch feines Verteilen der in den Pfröpfen vorhandenen Bakterien in Bouillon und Verstreichen der Aufschwemmung mittels einer Oese auf Agarplatten benannte Bacillen zu isolieren, fielen stets negativ aus. Die anderen Bakterien überwucherten durch ihr üppiges Wachstum die etwa in der Entwicklung begriffenen Rotlaufkolonien, die ja äußerst zart aufgehen.

Bessere Aussicht bot das Gelatineplattenverfahren, weil das Wachstum der Rotlaufbacillen in diesem Nährsubstrat am besten vor sich geht und recht charakteristisch ausfällt.

Zahlreiche Pfröpfe wurden auf diese Weise auf die Anwesenheit von Rotlaufstäbchen untersucht. Nach der bekannten Methode wurden mittels Nährgelatine die vorhandenen Keime durch Ueberimpfen von einem Röhrchen ins andere (3—5 Oesen der flüssigen Gelatine) in starken Verdünnungen isoliert. Nach zweitägigem Wachstum bei 22° C Temperatur wurden die Platten makroskopisch auf die Bakterienflora hin untersucht.

Der Nachweis von Rotlaufkolonien gelang recht selten; nur hin und wieder gingen vereinzelte, genau wie Rotlaufkolonien wachsende Gebilde auf, die bei schwacher Vergrößerung das Zentrum mit den nach der Peripherie sich verbreitenden, gekrümmten Fäden erkennen ließen.

Sie konnten leicht aus der Menge der anderen Bakterienkolonien in Reinkultur isoliert werden. Ihre Pathogenität wurde durch Impfung von Mäusen dargetan, die stets einer Infektion erlagen, wie sie der Rotlaufbacillus hervorbringt.

Nur einmal fehlte die Virulenz für Mäuse. Auf einer Gelatineplatte gingen zahlreiche Kolonien auf, die denen des Rotlaufs sehr ähnelten. Da sie zwischen zahlreichen anderen Kolonien eingebettet lagen, so wurde unter dem Mikroskop mit der Platinnadel von einer großen Kolonie ein Stück Rasen abgestochen und in feste Gelatine eingimpft. Diese Stichkultur wuchs als feiner Faden, von dem spärliche Fortsätze in die Gelatine nach allen Seiten hineinwucherten. Sie verflüssigte die Gelatine nicht. Nach Einsaat einer Oese von dieser Kultur in verflüssigte Nährgelatine und Ausgießen zu Platten gehen Kolonien in Reinkultur auf, die die typische Wuchsform der Rotlaufkolonien zeigen. Sie sind nur größer und die vom Zentrum ausgehenden Fäden sind stärker.

Mäuse lassen sich durch subkutane Einverleibung großer Massen Reinkulturen nicht infizieren, ebensowenig eine Taube. Das Uebertragen der verflüssigten Gelatinereinkulturen in dünnster Schicht auf Schrägagar zeigt nach einigen Tagen bei Zimmertemperatur tautropfenähnliche, spärliche Gebilde, wie sie für den Rotlauf typisch sind. Bei 37° C erfolgt so gut wie kein Wachstum, etwas besser ist dasselbe auf Blutserum. Gefärbte Präparate lassen schlanke, oft etwas gekrümmte Stäbchen erkennen, den Rotlaufbakterien ähnlich.

Wir hatten es hier demnach wohl mit einer avirulenten Rotlaufkultur zu tun.

Vielfach wurde mit Nutzen eine Art Vorkultur dem Plattenverfahren vorausgeschickt. Zu diesem Behufe werden Teile von den Pfröpfen in Bouillon aufgeschwemmt und diese Einsaat bei 37° C 24 Stunden be-

brütet. Manchmal können jetzt neben zahlreichen anderen Bakterien feine, schlanke Stäbchen nachgewiesen werden, die sich nach Gram färben. Die Isolierung gelingt mittels des beschriebenen Verfahrens. Die Reinkulturen, die sich in nichts von denen des Rotlaufs unterscheiden, töten Mäuse nach 3 Tagen. Bluttaussaat von den gestorbenen Tieren auf Agar, in Nährgelatine, zeigt die dem Rotlaufbacillus charakteristischen Wuchsformen.

Es erwiesen sich somit die Ueberimpfung der Impfstellen, wie die Impftabelle zeigt, und das Aufschwemmen von Pflöpfpartikelchen in Bouillon mit anschließender Bebrütung bei 37° C als recht wertvolle Methoden, die Vermehrung und Virulenz der den Rotlaufstäbchen ähnlichen Bakterien zu fördern und so die beiden anderen Methoden, die einfache Impfung und die Züchtung auf festen, künstlichen Nährböden, die oft aus Zufälligkeiten versagten, nach der positiven Seite hin zu vervollkommen.

Es bleibt nun noch übrig, den Nachweis zu erbringen, daß die, wie ich bis jetzt mit Absicht gesagt habe, den Rotlaufstäbchen ähnlichen Bakterien auch wirkliche Rotlaufbacillen sind, wie sie bei an Rotlauf krepierenden Schweinen nachgewiesen und gezüchtet werden können.

Tinktoriell verhalten sie sich genau so wie die aus Rotlaufkadavern gezüchteten Rotlaufkeime. Sie färben sich nach der Gramschen Methode positiv und präsentieren sich wie die echten Stäbchen als kurze, schlanke, manchmal etwas gekrümmte Stäbchen, die eine starke Affinität zu den weißen Blutkörperchen aufweisen. Das klinische Krankheitsbild der mit diesen Darmbacillen infizierten Mäuse entspricht dem der an Rotlauf erkrankten: die starke purulente Conjunctivitis, die Obstipatio, die Lähmung der Extremitäten. Der Krankheitsverlauf dehnt sich in wenigen Fällen auf 5—6 Tage aus, was seine Erklärung darin findet, daß die Zahl der Infektionskeime eine zu geringe ist und zur Entfaltung der pathogenen Wirkungen längere Zeit nötig ist; sonst tritt der Tod der infizierten Mäuse nach 3—4 Tagen ein.

Die Kulturen von Rotlauf- und den gezüchteten Darmbakterien stimmen völlig überein. Letztere wachsen wie erstere auf Gelatine, ohne sie zu verflüssigen, in Form der typischen, schneeflockenähnlichen Kolonien; in Gelatinestichkultur als feiner Faden mit strahligen, weißen, manchmal knolligen, manchmal punktförmigen Ausläufern, die sich im Laufe der Zeit als bläuliche, strukturlöse Wolken auflösen. Die Stichkulturen von stark virulenten Bacillen wachsen besonders schnell und üppig. Sie weisen die charakteristische Form der Gläserbürste auf. Eine Verflüssigung der Gelatine durch diese Bacillen, wie sie Jensen gefunden hat und auch von einigen Varietäten des Rotlaufbacillus behauptet, habe ich nie beobachtet. Trat irgend eine Verflüssigung ein, so war die Kultur verunreinigt. Das Wachstum auf Agar in Form von strukturlosen, den Tautropfen ähnlichen Kolonien, die wie ein Hauch erscheinen, teilen diese Darmbakterien mit den echten Rotlaufstäbchen. Ein gleiches ist vom Wachstum in Bouillon zu sagen: wie beim Erreger des Rotlaufs anfangs Trübung, dann Senkung der Bacillen und Bildung eines Bodensatzes.

Im hängenden Tropfen zeigt sich, wie beim Rotlauerreger, keine Eigenbewegung.

Auf Kartoffel war ebenfalls kein Wachstum vorhanden, Mäuse werden durch Immunisierung mit Rotlaufserum ebenso gegen eine Infektion mit den Darmbakterien geschützt wie gegen die echten Rotlauerreger.

Alle diese charakteristischen Merkmale, wie ich sie angeführt habe, zwingen uns dazu, dieses Darmbakterium als echten Rotlaufbacillus zu proklamieren.

Auf Grund meiner zahlreichen Untersuchungen, die sich über ein Jahr hinaus erstrecken, konnte ich mithin ebenso wie Olt und Jensen feststellen, daß der Darm gesunder Schweine die Wohnstätte von Rotlaufbacillen ist, die daselbst in verschiedener Anzahl ein saprophytisches Dasein führen und unter bestimmten Bedingungen ihre Virulenz zum Schaden ihres Wirtes entfalten können.

Was die Fehlresultate Heinicks anbelangt, so sind sie dahin zu erklären, daß H. seine Impfversuche nicht lange genug ausgedehnt und vor allem die bakterioskopische Nachprüfung der Impfstellen und ihre eventuelle Ueberimpfung unterlassen hat. Wunder nehmen muß es, daß ihm bei seinen Untersuchungen nie die Isolierung der Rotlaufbacillen durch das Kochsche Gelatineplattenverfahren gelang.

Seine Resultate wären wahrscheinlich bessere gewesen, wenn er Partikel der Pfröpfe, die Rotlaufferregern ähnliche Bakterien enthielten, in Nährbouillon verrieben und eine Vermehrung dieser Keime durch Züchtung bei 37° C herbeigeführt hätte, wie ich es oft mit Erfolg versucht habe. Es ist nicht anzunehmen, daß in der Provinz Posen die Schweinebestände frei von Rotlaufbacillenzwischenträgern sein sollten, da dort die Rotlaufseuche ebenso häufig wie in den anderen Provinzen der preußischen Monarchie vorkommt.

Untersuchungen der Tonsillen.

Ueber das Vorkommen der Rotlaufbacillen in den Tonsillen gesunder Schweine hat zuerst Bauermeister in sehr eingehender Weise Untersuchungen angestellt. Sie wurden von C. O. Jenssen einer genauen Prüfung unterzogen. Er konnte B.s Befunde durchaus bestätigen.

Meine eigenen Untersuchungen zum Zwecke des Nachweises der Rotlaufstäbchen in den Tonsillen gesunder Schweine bewegten sich in denselben Bahnen wie bei der Prüfung der Darmschleimhaut.

Die Tonsillen wurden ohne besondere Kautelen den geschlachteten Schweinen entnommen und möglichst bald untersucht. Zunächst wird der Inhalt der Drüsenausführungsgänge bakterioskopisch geprüft.

Ausstrichpräparate aus glasigem farblosen Sekret lassen beim Durchmustern unter dem Mikroskop häufig absolute Keimfreiheit erkennen, oft sind spärliche plumpe, dicke Stäbchen (*Bacterium coli commune*), ovoide Bakterien, Kokken und Spirillen nachzuweisen. In den breiigen Pfröpfen sitzen die ovoiden Bakterien meistens in ungeheuren Mengen.

Sodann findet man darin des öfteren kleine, feine Stäbchen, die sich nach Gram positiv färben.

Die Angabe Bauermeisters, daß die den Rotlaufstäbchen ähnlichen Bacillen besonders reichlich in den fleckig oder diffus geröteten Tonsillen sitzen, kann ich nicht bestätigen. Ich konnte sie durchaus nicht immer und wenn, dann oft nur in spärlicher Menge in diesen Mandeln nachweisen.

Zunächst wurde wieder die Impfung von Mäusen zwecks Isolierung dieser schlanken Stäbchen benutzt. Es wurden in der Regel zwei Oesen Tonsillensekret, wie es aus den Oeffnungen hervorgepreßt wurde, subkutan unter die Haut gebracht.

Es sei hier der erste Impfversuch nebst seinen Resultaten wiedergegeben: Das Sekret von 15 Mandeln wurde ohne vorhergegangene bakteriologische Diagnose an 15 Mäuse verimpft. Nach 2 Tagen gingen 4 Mäuse an Infektion durch ovoide Bakterien ein, nach 3 Tagen 9 (ovoide Bakterien) und am 4. Tage die beiden letzten, deren Sektion folgenden Befund ergab: Impfstelle ödematös durchtränkt, darin grampositive schlanke, kleine Stäbchen, Rectum prall gefüllt, Dünndarm gerötet, Leber-Nierenparenchym getrübt, Milz dunkelrot, bedeutend geschwollen.

Ausstriche aus Milz und Nieren weisen zahlreiche, schlanke Bacillen auf, die sich nach Gram färben, ebenso die aus Blut. Oft sind die Stäbchen in großen Mengen in die Leukocyten eingelagert. Nach Einsaat eines Blutstropfens in verflüssigte Gelatine werden drei Verdünnungen angelegt und die erstarrten Platten bei 22° C aufbewahrt. Nach 2 Tagen gehen zarte, den Schneeflocken ähnliche Kolonien auf, die bei 50-facher Vergrößerung ein Zentrum erkennen lassen, von dem zahlreiche, verästelte Fäden in die Gelatine hineinwachsen.

Die angelegte Stichkultur läßt die wohlbekannte Gläserbürstenform erkennen.

Auf Agar wachsen nach Ausstrich einiger Blutstropfen hauchähnliche, kaum sichtbare Kolonien.

Mit Organstückchen von diesen beiden gestorbenen Versuchstieren infizierte Mäuse zeigen nach 24 Stunden dieselben klinischen Erscheinungen wie sie bei Infektion mit Rotlauf vorkommen: Blennorrhöe, Obstipatio, starke Hinfälligkeit, Lähmung, Tod nach 3 Tagen. Kulturversuche fallen genau so aus wie die zuvor beschriebenen. Die Pathogenität der Reinkulturen wird ebenfalls durch Impfung festgestellt. Ihre Virulenz läßt sich durch Passagen steigern, so daß der Tod der Mäuse schon nach 2 Tagen eintritt. Immunisierte Tiere (Prenzlauer Rotlaufserum) bleiben trotz Infektion mit Reinkulturen am Leben, die Kontrollmäuse sterben.

Wie der Vergleich dieser schlanken, grampositiven Stäbchen in Bezug auf ihre pathogenen Eigenschaften, ihre Wuchsformen in Gelatine, auf Agar und in Bouillon (erst Trübung, dann Niederschlag der Bacillen als kohärente Masse) mit den Rotlaufstäbchen zeigt, ist der volle Beweis erbracht, daß wir es mit echten Rotlaufbacillen zu tun haben. Die Impftabelle zeigt, daß die positiven Resultate mit den Tonsillenpfropfen im Vergleich zu denen bei den Darmuntersuchungen als bedeutend bessere zu bezeichnen sind.

Es wird nach diesem ersten positiven Versuch stets in der Weise verfahren, daß nur das Sekret solcher Mandeln verimpft wird, in dem mikroskopisch rotlaufstäbchenähnliche, grampositive Bacillen gefunden werden.

Die Impfungen fallen dann in der Mehrzahl der Fälle günstig aus. Selbst wenn diese Bakterien ganz spärlich vorhanden sind, wirken sie pathogen. Sehr häufig finden sie sich fast in Reinkultur, ein Umstand, wie er bei den Untersuchungen der Ileocökalpföpfe nie beobachtet wurde.

Mit großem Erfolg wird wieder die Uebertragung der Impfstellen der durch andere Bakterien getöteten Mäuse auf frische Mäuse vorgenommen. Meistens wird die Virulenz der in der Impfstelle vorgefundenen, schlanken Stäbchen dadurch so gesteigert, daß die Tiere der Rotlaufinfektion unterliegen, wie Kultur und bakterioskopischer Befund beweisen.

Meine Befunde stehen da im Gegensatz zu denen Bauermeisters, der behauptet, die Mäuse, die mit Rotlaufstäbchen enthaltender Oedem-

flüssigkeit geimpft würden, erlügen regelmäßig einer Septikämie (an oviden Bakterien) innerhalb 24—36 Stunden.

Wie aus meiner Impftabelle ersichtlich ist, konnte ich in 12 Fällen auf diese Weise reinen Rotlauf ohne Mischinfektion erzeugen, nur 5mal gingen die Impftiere an anderen Infektionen ein.

Um die anderen in der Impfstelle vorhandenen Bakterien auszuschalten, ging ich auch in der Weise vor, daß ich Partikel dieser Stelle in Bouillon aufschwemmte, ca. 18—24 Stunden in den Brutschrank (37° C) stellte, und nachdem ich mich mikroskopisch von dem Vorhandensein der schlanken Stäbchen überzeugt hatte, sie durch das Kochsche Plattenverfahren isolierte. Wuchsformen auf den gebräuchlichen Nährböden und Pathogenität stimmten stets mit den Rotlaufstäbchen überein. Es seien, bevor ich die Erfolge der Isolierung durch das Plattenkulturverfahren bespreche, die Impftabellen angegeben.

I. Impftabelle.
Subkutane Impfung mit Tonsillensekret.

Zahl der Tonsillen	Zahl der geimpften Mäuse	Ergebnisse der Impfung
15	15	13 Mäuse † an oviden Bakterien 2 Mäuse † an Rotlauf
5	5	1 Maus † an <i>Bacterium coli</i> 4 bleiben am Leben
4	4	4 „ „ „
4	4	1 bleibt „ „ 3 ovoide Bakt. und Coli
4	4	2 bleiben am Leben 2 † an Rotlauf
10	10	5 † „ „ 5 bleiben am Leben
8	8	1 bleibt „ „ 7 † an Rotlauf
50	50	16 an Rotlauf eingegangen 17 † an anderen Bakterien 17 bleiben am Leben.

II. Impftabelle.
Ueberimpfung der rotlaufstäbchenähnlichen Bakterien enthaltenden Impfstellen.

Zahl der Impfstellen	Zahl der geimpften Mäuse	Ergebnis der Impfung
4	4	3 † an Rotlauf 1 † „ oviden Bakterien
3	3	3 † „ Rotlauf
3	3	2 † „ „ 1 † „ Coli
2	2	2 † „ Rotlauf
3	3	1 † „ „ 2 † „ oviden Bakterien
2	2	1 † „ „ 1 † „ Rotlauf
17	17	12 † an Rotlauf 5 † an anderen Bakterien

Auch das einfache Gelatineplattenverfahren erwies sich zwecks Isolierung der Rotlaufkeime als ziemlich brauchbar. Bei der richtigen Auswahl der Tonsillen (bakteriologischer Nachweis der Bacillen im Sekret) gelang es oft ohne weiteres Reinkulturen zu gewinnen, deren Virulenz stets durch den Tierversuch festgestellt wurde. Tod stets durch Rotlaufstäbchenseptikämie.

Die Resultate der Isolierung durch das Kochsche Plattenverfahren seien hier angeführt.

Verdünnung	I	II	III	
Platte a	1	2	3	Platte 2 zeigt Rotlaufkolonien
" b	1	2	3	keine Rotlaufkolonien
" c	1	2	3	Platte 3 zeigt eine Rotlaufkolonie
" d	1	2	3	keine Rotlaufkolonien
" e	1	2	3	" "
" f	1	2	3	" "
" g	1	2	3	Platte 1 einige Rotlaufkolonien
" h	1	2	3	keine Rotlaufkolonien
" i	1	2	3	" "
" k	1	2	3	" "
" l	1	2	3	Platte 1 und 2 Rotlaufkolonien
" m	1	2	3	keine Rotlaufkolonien
" n	1	2	3	" "
" o	1	2	3	" "
" p	1	2	3	" "
" q	1	2	3	" "
" r	1	2	3	Platte 1 zahlreiche, 2 wenige Rotlaufkolonien
" s	1	2	3	kein Rotlauf
" t	1	2	3	" "
" v	1	2	3	" "
				5mal Rotlaufkolonien

Daß die in den Mandeln vegetierenden Rotlaufbacillen gegen Kälte recht widerstandsfähig sind, beweist folgender Versuch: 5 zur Untersuchung bestimmte Tonsillen wurden 5 ausgeschlachteten Schweinen entnommen, die bei 16° C Kälte auf offenem Wagen ca. 4—6 Meilen transportiert worden waren. Das Gewebe war so hart gefroren, daß man es nur mit größter Kraftanstrengung und ganz scharfem Messer schneiden konnte. Nachdem die Tonsillen durch Auftauen wieder biegsam geworden waren, wurde das Sekret von zweien (Nachweis von schlanken Stäbchen) an zwei Mäuse subkutan verimpft. Beide starben nach 6 Tagen an Rotlaufinfektion. Die angelegten Kulturen wuchsen sowohl auf Agar wie in Gelatine sehr langsam. Weiterzüchtung in frischen Nährböden förderte das Wachstum nicht sonderlich. Die Kolonien wuchsen lange nicht so fein wie sonst, sie sahen unter dem Mikroskop gröber aus, verursacht durch die um vieles dickeren Verästelungen. Erst die Tierpassage machte diese durch die Kälte geschädigten Bacillen virulenter.

Wie bei den Darmuntersuchungen konnte ich demnach auch bei denen der Tonsillen den Beweis erbringen, daß sie häufig der Sitz von Rotlaufbacillen sind. Ich glaube gezeigt zu haben, daß sie sich in nichts von den Rotlaufstäbchen unterscheiden, die den Schweinerotlauf verursachen.

Die Nachprüfung der Arbeiten Bauermeisters und C. O. Jensens, die ich über ein Jahr ausdehnte, ergab somit die vollkommene Richtigkeit der Behauptungen dieser beiden Autoren.

Schlußbetrachtung.

Ueerblicken wir die Resultate der angestellten Untersuchungen, so ergibt sich, daß bei 66 Darmuntersuchungen 26mal Rotlaufstäbchen, bei 50 Tonsillenuntersuchungen 28mal echte Rotlaufkeime nachgewiesen werden konnten. Dazu kommen noch die verschiedenen positiven Resultate durch das Plattenverfahren.

Wir können also auf Grund der vorliegenden Befunde mit Recht behaupten, daß fast jeder zweite Darm der untersuchten Schweine und jede zweite Tonsille echte Rotlaufbakterien beherbergen. Wenn wir nun des weiteren erwägen, daß auch bei dem negativen Ausfall der Untersuchungen infolge der Unzulänglichkeit der Methoden, das Vorkommen dieser Infektionserreger in keinem Falle absolut ausgeschlossen ist, so kommen wir zu dem Resultat, daß in der Tat in Uebereinstimmung mit Olt, Bauermeister und Jensen die Rotlaufbacillen als weit verbreitete Bewohner der Schleimhäute der normalen Schweine betrachtet werden dürfen. Diese Tatsache läßt uns den Wert der prophylaktischen Maßnahmen doch als recht bedingt erscheinen. In praxi dürfte er ein ganz minimaler sein.

Nach wie vor dürfte die Schutzimpfung das wertvollste Mittel sein, der Verbreitung der Seuche Herr zu werden, sie ist den kostspieligen, zwecklosen prophylaktischen Maßnahmen anderer Art sicherlich überlegen.

Herrn Prof. Pfeiffer spreche ich für gütige Anregung zu dieser Arbeit und die liebenswürdige Erlaubnis, sie im hygienischen Institut anfertigen zu dürfen, meinen verbindlichsten Dank aus. Ebenso danke ich dem ersten Assistenten des Instituts, Herrn Privatdozenten Dr. Friedberger für das Interesse, das er meiner Arbeit entgegengebracht hat.

Literatur.

- Pasteur und Thuillier, Compt. rend de l'Ac. 1882—1883.
 Cornevin, Première étude sur le rouget du porc. Paris 1885.
 Loeffler, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. 1885.
 Lydtin und Schottelius, Rotlauf der Schweine. Wiesbaden 1885.
 Schütz, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. 1885—1886.
 Kantorowitz, Ein bemerkenswerter Rotlauffall. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1899. No. 41.)
 Olt, Die entozoischen Follikulärerkrankungen im Darm des Schweines. (Zeitschr. für Fleisch- und Milchhygiene. Jahrg. VIII. Heft 7.)
 —, Ueber das regelmäßige Vorkommen der Rotlaufbacillen im Darne des Schweines. (Deutsche tierärztl. Wochenschr. 1901. No. 5.)
 Bauermeister, Ueber das ständige Vorkommen, insbesondere der Rotlaufbacillen in den Tonsillen des Schweines. Inaug.-Dissert. Bern 1901.
 Jensen, C. O., Om Rødsygebacillens Forekomst paa Slimhinderne hos sunde Svin. København 1902.
 52 Beretning fra Den Kgl. Veterinaer og Landbohøjskoles Laboratorium for landøkonomiske Forsøg.
 Heinick, Beiträge zur Kenntnis der Bakterienflora des Schweinedarmes. (Archiv f. wissenschaftl. und praktische Tierheilkunde. Bd. XIX. 1903.)
 Berndt, Ueber Rotlaufimpfung und ihre Gefahren in veterinärpolizeilicher Hinsicht. (Berl. tierärztl. Wochenschr. 1904. No. 8.)
 Stadie, A., Beiträge zur Biologie des Rotlaufbacillus mit Rücksicht auf die Verwertung des Fleisches und die unschädliche Beseitigung der Kadaver rotlaufkranker Tiere. (Arbeiten aus dem hygienischen Institut der Berliner tierärztl. Hochschule.)
 Lösenner, Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt. Bd. XII.
 Veröffentlichungen aus den Jahres-Veterinärberichten der beamteten Tierärzte Preußens. 1905.

- Voges, O. und Schütz, W., Ueber Impfungen zum Schutze gegen den Rotlauf der Schweine und zur Kenntnis der Rotlaufbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII.)
 Friedberger, E., Die spezifischen Serumveränderungen bei Cholerabacillenzwischenträgern. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XL. 1906. Heft 3.)
 Preisz, Rotlauf der Schweine. (Handb. der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. 1903.)

Nachdruck verboten.

Die Entstehung der Botryomycesrasen aus der Staphylokokkenform des Erregers.

[Aus dem bakteriologischen Institut der K. tierärztl. Hochschule in München. Damal. Vorst: Prof. Dr. Kitt.]

Von Dr. med. vet. **Wilhelm Ernst**,
 städt. Tierarzt der amtlichen Milchuntersuchungsstelle in München.

Mit 3 Figuren.

Während die pathologische Anatomie der Botryomykose und die Genese derselben heute vollständig geklärt sind, ist über die Entwicklung der Botryomycesrasen aus der Staphylokokkenform so gut wie nichts bekannt.

Wir wissen bisher nur, daß die Kokkenhaufen, aus denen das Innere der Kugelrasen besteht, von einer Hülle umgeben sind, die die Kokken zu Kugeln und Schläuchen und diese wieder zu zoogloeaartigen Konglomeraten vereinigt.

Die Kapsel wird von Johnes als doppelkonturiert beschrieben. Nur vereinzelt und undeutlich macht sich eine feine Streifung bemerkbar, sonst ist eine Struktur nicht sichtbar. An der Peripherie der Kapsel finden sich kleinere und größere Knospen und Ausstülpungen des Innenraumes, die mit Mikrokokken gefüllt sind (Rivolta, Johnes, zit. n. Glage). Die Kapsel wird als Produkt der Pilzkolonie angesehen, da sie in keinem organischen Verband mit dem benachbarten Granulationsgewebe steht. Nach Kitt könnte die Kapselbildung durch die besonderen Nährbedingungen im Pferdekörper oder durch das relativ anaerobische Dasein des Coccus im Tiere hervorgerufen sein, oder die Zoogloeamasse stelle eine Ruheform oder Involutionsform des Staphylococcus dar.

Ich möchte hier vorerst nicht auf die Frage eingehen, ob der Staph. pyog. aureus identisch mit dem Botryococcus ascoformans ist oder nicht, sondern nur die Umwandlung der Kokkenhaufen in die Brombeerrasen besprechen.

Im Laufe meiner Untersuchungen über die Krankheit hatte ich Gelegenheit, einen Fall vom Pferde zu beobachten, der vollständig jene Frage löst. Ich betone, daß viele andere Fälle, z. B. alte Mykofibrome, zum Studium der Rasenentstehung nicht geeignet waren. Celloidin-einbettung ist besonders günstig für die Untersuchung. Eine bestimmte Vorbehandlung der Blöcke ist nicht notwendig, fast alle Färbungen lieferten den gewünschten Erfolg.

Im besonderen Falle hatte ich es offenbar mit einem verhältnismäßig frischen Erkrankungsstadium zu tun, in dem die verschiedenen Entwicklungsstufen der Rasen einzeln verfolgbar waren.

Das Gewebe in der Umgebung der *Botryomyces* zeigt weitgehende zellige Infiltration auch entfernt von den Rasen, um die neutrophile polynukleäre Leukocyten und vereinzelte acidophile das Gewebe einschmelzen und kleinste Absceßchen bilden. Das Bindegewebe der Absceßumgebung macht einen jungen unfertigen Eindruck durch die Menge großkerniger Fibroblasten fast embryonalen Charakters.

In die Eiterzellen verstreut und im Netz der Fibroblasten und Angioplasten eingebettet kann man zahlreiche pigmenthaltige große Zellen beobachten. Das ganze Gewebe zeigt den Typus junger Bindegewebswucherung.

Nun zum eigentlichen Thema. Wenn wir die überall im Gewebe eingesäten *Botryomyces*-Rasen betrachten, so fallen vor allem die Größenunterschiede dieser Gebilde auf. Kleinste Pilzstöcke bis zu Kokkenskonglomeraten von 1 mm Durchmesser sind zu beobachten. Bei diesen großen Gebilden stimmt im ganzen die Beschreibung der früheren Autoren.

Alte Rasen.

Der zentrale Teil der Rasen ist durch Kokken gebildet, die von einer nach außen gegen die Leukocyten zu scharf berandeten Kapsel umzogen sind. Eine bestimmte innere Kontur zwischen Kokken und Kapsel ist aber hier nicht oder nur ganz undeutlich zu konstatieren. Eine feinstreifige Granulation ist in der Kapsel nachzuweisen.

Diese Struktur ändert sich manchmal derart, daß nur die Randpartieen des Rasens unter der Kapsel noch Kokken enthalten, der zentrale Teil keine färbbaren Mikroorganismen mehr aufweist (s. später).

Die Kapsel ist verschieden dick. Beziehungen zwischen der Dicke der Kapsel eines fertigen Rasens und der Größe der Rasen selbst sind nicht zu konstatieren.

Junges Stadium.

Betrachten wir im Gegensatz zu diesen älteren Gebilden kleine, z. B. nur einkugelige Haufen, so zeigt sich ein wesentlich anderes Bild. Eine Kapsel fehlt, der ganze Haufen besteht aus Kokken. Entsprechend dem Fehlen einer Kapsel, ist eine äußere Kontur nicht

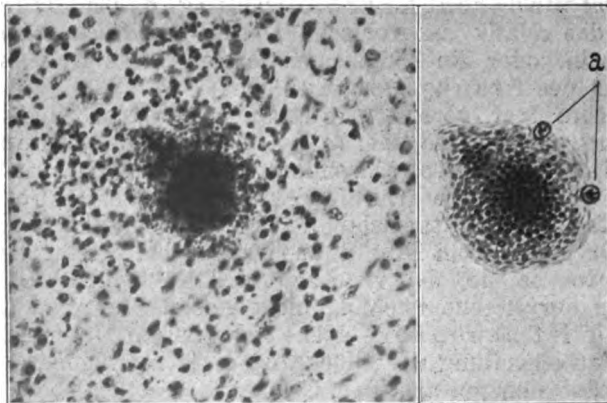


Fig. 1. I. Stadium der Rasenbildung. Scheidung in Zentralkokken und Randkokken. 1 \times 500. a Leukocyten.

scharf verfolgbar. Es ist eben eine Kokkenkolonie von Eiterzellen umgeben.

Jedoch sind zwischen den äußeren Kokken und den zentralen Unterschiede. Die Innenkokken sind klein, scharf begrenzt, stark färbbar. Nach dem Rande zu verlieren die Kokken die Fähigkeit, bestimmte Farben aufzunehmen, sie werden blaß, vergrößern sich, werden blasig kugelig, am äußersten Rande platten sie sich sogar ab und bilden Schüppchen, die ohne scharfe Grenze um die Kolonie sich legen. Leukocyten drängen sich in und um diese Randzone und verwischen die Kontur (Fig. 1).

Wir haben hier eine Kolonie der Staphylokokkenform des Botryomyces. Die Kokken grenzen sich in zwei Zonen ab, in eine zentrale und in eine Randzone, deren Individuen degeneriert blasig, schlecht färbbar erscheinen.

Uebergänge.

Zwischen diesen Kolonien und solchen mit scharf abgegrenzter Kapsel bestehen Uebergänge.

Die Schüppchen am Rande mehrten sich durch Abplattung tiefer liegender Kokken, legen sich zusammen und bilden eine haarfein gezogene, unregelmäßig gewellte und gebuchtete Linie um den ganzen Rasen. Der Pilzstock hat eine scharfe äußere Kontur. Die Uebergangsformen zwischen zentralen und Randkokken verlieren sich mehr und mehr (Fig. 2).

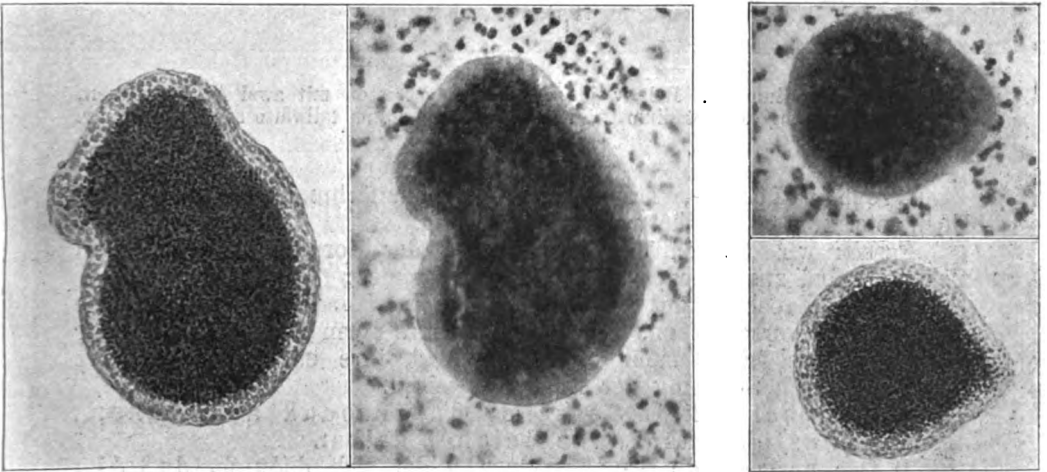


Fig. 2. Zwei junge Botryomycesrasen. Stadium II. Kapsel scharf berandet. Eine innere Kontur ist nicht gut verfolgbar. Zentralkokken alle stark gefärbt. 1×500 .

Damit ist eine Kapsel gegeben, eine Hülle aus degenerierten Kokken um die zentralen, lebensfähigen.

Wieder an anderen Gebilden sind verschiedene Stadien zu verfolgen. Gut bekapselte Rasen zeigen an irgend einer Stelle eine Lücke in der Berandung. Die zentralen Kokken quellen in eine Ausbuchtung und bilden eine anhängende Rasenkugel, deren unfertige Kapsel in einer Zone degenerierter Kokken besteht (Fig. 3).

Es ist bekannt, daß die Kapsel sich anders färbt als die Kokken selbst. Dies trifft auch bei der unfertigen Kokkenrandzone zu. Die zentralen Kokken sind basophil, die Randzone wie die fertige Kapsel oder auch zentral gelegene degenerierte Partien acidophil. Eine Erscheinung, sogenannte Umkehrung der Färbbarkeit, die für degenerierende oder in tierischen Säften oder in Phagocyten absterbende Bakterien schon längst erwiesen ist.

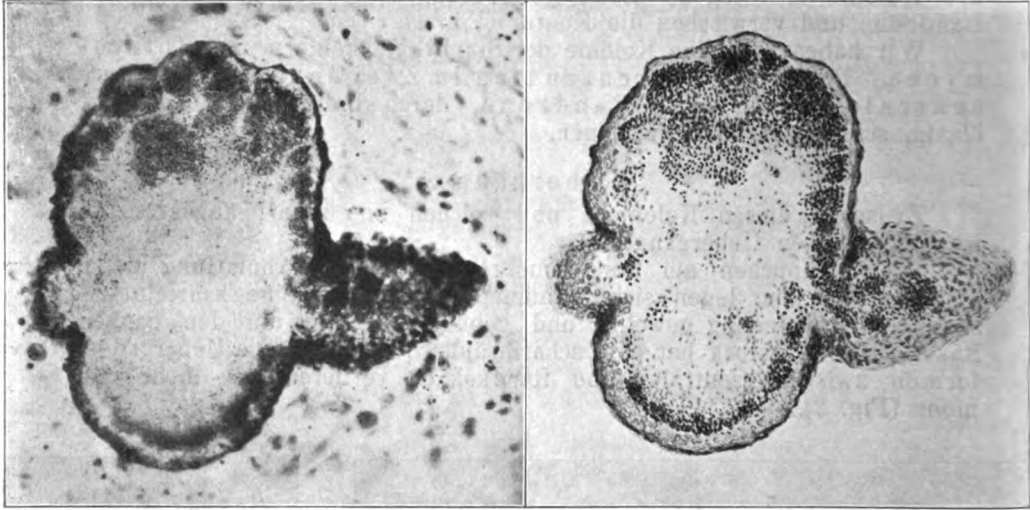


Fig. 3. Stadium III. Relativ junger Botryomycesrasen mit zwei Ausstülpungen, deren Kapselbildung noch Stadium I aufweist. Zentralkokken teilweise schlecht färbbar. 1×600 .

Giemsa-Lösung-, Thionin-, Methylenblaufärbungen, Hämatoxylin-Eosin etc. zeigen dies hervorragend prächtig.

Fassen wir die Schlüsse, die wir aus der Morphologie der Rasen ziehen dürfen, zusammen, so ergibt sich folgendes:

1) Die Kapsel bildet sich aus einer Randzone von Kokken, die degenerieren, verschleimen, sich verkleben, ihre Form ändern und in der fertigen Kapsel nicht mehr erkennbar sind, ihre ehemalige Existenz höchstens durch Streifung der Kapsel beweisen.

Die Kapsel ist kein Ausscheidungsprodukt der Kokken, sondern besteht aus Kokkenleichen selbst.

2) Der ausgebildete Brombeerrasen bildet sich dadurch, daß die zentralen Kokken durch einen Wall toter Kameraden vor den degenerierenden Einflüssen geschützt weiterwuchern. Die sich mehrende Kokkenmasse dehnt die Hülle, zieht die Randkokken zu Schüppchen und Streifen aus (Streifung der Kapsel nach Johne) und sprengt schließlich die Kapsel.

Ein Herausquellen und Vorwachsen der lebenden Kokken ist die Folge und von neuem beginnt an den herausgequollenen Kokken die Degeneration und bewirkt Kapselbildung an der Ausbuchtung. Beweis ist das Auftreten verschiedener Stadien der Kapselbildung an einem Pilzstock.

Wiederholt sich dieser Vorgang an mehreren Stellen, so ist die Bildung des brombeerähnlichen Rasens fertig. Dabei können im Inneren die ursprünglichen Mutterkolonien, vielleicht durch Autolyse, zu Grunde gehen, dann ist ein Pilzstock geschaffen, in dem nur am Rande unter der Kapsel lebensfähige Kokken sich färben.

Ursachen der Kapselbildung.

Als Ursachen der Rasenbildung aus der Staphylokokkenform sind Antistoffe im tierischen Organismus anzunehmen, Immunstoffe, welche fähig sind, die Kokken zu verschleimen und zu agglutinieren. Die der Einwirkung der tierischen Säfte am meisten ausgesetzten Randkokken degenerieren und schützen als „Kapsel“ die Zentralkokken vor dem Untergang.

Welcher Art diese Immunkörper sind, möchte ich nicht entscheiden, wahrscheinlich ist ein Zusammenwirken von verschleimenden und bakteriziden und bakteriolytischen Körpern gegeben.

Fassen wir die Rasenbildung aus dem Botryococcus als Immuneigenschaft des Körpers auf, so erklärt sich von vornherein ein großer Teil der Botryomycesfrage.

1) Botryomykose ist eine hauptsächlichliche Erkrankung der Equiden, nur ausnahmsweise erkranken andere Gattungen, z. B. Rind, Schwein, Mensch (?).

Diese Tatsache ist nach allgemeiner Erfahrung als Gattungsimmunitätseigenschaft aufzufassen. Während bei Equiden fast alle Individuen die Staphylokokkenform zu Rasen verschleimen können, sind bei anderen Gattungen nur einzelne Individuen dazu fähig (vergl. Individualdisposition und -Resistenz).

2.) Die Botryomykose ist eine chronische Infektionskrankheit. Während die meisten Gattungen durch akute Eiterung oder okult gegen eine Infektion mit Botryokokken, der sie sicher ebenso häufig wie die Pferde ausgesetzt sind, reagieren, entstehen bei Equiden oder einzelnen Individuen anderer Gattungen durch chronische Entzündung bedingte Granulome, da die Kapselbildung einer raschen Zerstörung des Infektionserregers im Wege ist.

Es ändert sich bei der Degeneration der Randkokken wohl auch das chemotaktische Verhältnis zu den Leukocyten, wie wir es z. B. beim gekapselten Anthraxbacillus im Vergleich zum Kulturanthrax kennen (Gruber und Futaki).

Trotzdem ist ein Ausheilen der Botryomykose denkbar. Man sieht häufig ein Eindringen von Leukocyten in den Pilzstock selbst. Die Leukocyten fressen dann die Zentralkokken auf, während die Kapsel noch lange erhalten bleibt. (Verkalkung der Rasen habe ich nie beobachtet, jedenfalls ist sie sehr selten.)

3) In akuten Samenstrangfisteln sind Botryomycesrasen nicht zu finden, erst bei längerer Dauer der Krankheit sind die Rasen im Eiter zu sehen. Es werden eben die Antikörper, die zur Rasenbildung Veranlassung geben, erst nach der Infektion gebildet, wenn der Körper nicht in akuter Reaktion der Botryokokken Herr wird. Die Gattung der Equiden ist vorzugsweise veranlagt, die spezifischen Immunkörper zu erzeugen.

4) Sind diese Antikörper einmal vorgebildet, so fehlt der chronische Charakter der Entzündung; so habe ich z. B. Nierenmetastasen von Botryomykose in akuter Vereite-

rung gesehen, während vorhandene Haut- und Lungenbotryomykose chronische Entzündungserscheinungen zeigte.

Zum Schlusse möchte ich an dieser Stelle nur kurz die Frage berühren, ob die Botryokokken und die Staphylokokken identisch sind. Die Mehrzahl der tierärztlichen Bakteriologen sind dieser Ansicht (z. B. Kitt, De Jong). Gegen die Identität sollen Versuche beweisend sein, die mit Staphylokokkenserum auf Botryokokken und umgekehrt gemacht wurden oder biologisch vergleichende Impfexperimente und Immunisierungsversuche.

Die Ergebnisse dieser Versuche können aber nur dahin verwertet werden, daß die Kokkenstämme, mit denen gearbeitet wurde, in sero-diagnostischer Hinsicht und bei Impfversuchen verschieden sich verhielten.

Den Schluß auf die ganze Reihe von Staphylokokkenstämmen auszudehnen ist nicht angängig.

Es muß bis auf weiteres festgelegt werden, daß ein durchgreifender Unterschied zwischen den Staphylokokken des Menschen und der Tiere und den Botryokokken nicht existiert. Kulturformen, Farbvarietäten sind beiden gemeinsam. Eine Kulturform kann die Eigenschaften ändern, in die andere übergehen. Die kleineren und größeren Unterschiede der einzelnen untersuchten Varietäten lassen schließen, daß es viele Stämme von Staphylokokken gibt, die in Wuchsform, Farbe, Virulenz verschieden sind, aber durch Zwischenstufen und sogar Uebergänge der einen Varietät in die andere ihre Zusammengehörigkeit zeigen.

München, Juni 1907.

Nachdruck verboten.

Ueber die Vermehrung der Rückfallspirochäten im Körper der Wanzen.

[Aus dem Bakteriologischen Laboratorium zu Astrachan.]

Vorläufige Mitteilung.

Von **N. N. Klodnitzky.**

Mit 2 Figuren.

Tagein tagaus die Veränderungen der bakteriellen Infektion bei den Wanzen, die ein angestecktes Tier gebissen haben, verfolgend, mußten wir (Dr. W. Jordansky und ich)¹⁾ wie die anderen Beobachter zu dem Schluß kommen, daß während eines gewissen Zeitraumes die Bakterien sich außerordentlich im Leibe dieser Insekten vermehren mußten. Einiges wies auch darauf hin, daß die Erreger der Infektion eine sehr geraume Zeit in den Wanzen sich erhalten können. Diese ungewöhnlichen Resultate brachten mich auf den Gedanken, die Entwicklung der Spirochäten im Körper der Wanzen, die, wie bekannt, eine bedeutende Rolle bei der Uebertragung und Verbreitung des Rückfallfiebers spielen sollen, zu verfolgen. Als indirekte Bestätigung dieser Voraussetzung kann die

1) Ueber die Rolle der Wanzen bei Uebertragung der Pest. (Journ. hygieny i sudebnoi mediciny. 1907. p. 755.) [Russisch.]

Tatsache betrachtet werden, daß diese soeben genannte Infektion oft und verbreitet im Osten (also auch in Rußland) beobachtet wird, während diese Krankheit im Westen und besonders in Deutschland zu den Seltenheiten gehört.

Die im vorigen Winter im Gouv. Astrachan mit ziemlicher Heftigkeit wütende Rückfallfeberepidemie schaffte beträchtliches Material herbei. Als Quelle dieser Ansteckung dienten wahrscheinlich die Nachtlagerhäuser und aus ihnen wurde die Krankheit in das städtische Gefängnis verschleppt. Im Dezember—Januar entwickelten sich dort epidemische Erkrankungen, die man in Zusammenhang mit der nach dem überfüllten Gefängnis stattgehabten Ueberführung der verhafteten ex-Nachtlagerhäuserbewohner bringen konnte.

Wir stellten vom Anfange an auf nach Giemsa-Romanowsky gefärbten Präparaten von einer großen Menge Wanzen das morphologische Bild des „normalen“ Inhaltes dieser Insekten fest, sowohl derjenigen, die soeben Blut vollgesaugt, als derjenigen, die einige Zeit aufbewahrt waren. Es findet sich nichts Bemerkenswerthes, wenn das Tier (oder der Mensch) vorher gesund war. Die roten Blutkörperchen werden zuerst zerstört, während die Leukocytenkerne sich als widerstandsfähige Gebilde erwiesen. Nach einigen Tagen gelingt es, aus den Wanzen bloß eine schmutzig-braune oder schwarze, die Reste des zerstörten Blutfarbstoffes enthaltende Flüssigkeit zu bekommen.

Die Ansteckung der betreffenden Insekten fand entweder unmittelbar an den Kranken statt, oder man sammelte die in den fiebernde oder fieberlose Rückfallfiebererkrankte enthaltenden Krankenhaussälen sich befindenden Wanzen. Alles in allem wurden ungefähr 30 Wanzen untersucht.

Die erste Zeit, ungefähr während der ersten 3—5 Tage, bemerkt man auf den Präparaten einzelne Spirochäten mit scharf ausgesprochenen Windungen. Nach Ablauf dieser Zeit (und ebenso bei den Wanzen, die während der Epidemie in den Nachtlagerhäusern u. s. w. gesammelt wurden) beobachtet man ungewöhnlich stark entwickelte, knäuel-, filz- oder haarflechtenförmige Fäden. Bei Anfertigung der Präparate aus dem dicken Inhalte und dem nachfolgenden Auseinanderziehen der Deckgläschen erleiden selbstverständlich auch diese Fäden eine Ausdehnung. Sie sind manchmal von verschiedener Dicke und die dicksten unter ihnen kann man mit Leichtigkeit in ihrem ganzen Verlaufe untersuchen. Wenn man zur Bereitung des Präparates eine physiologische Kochsalz-Wanzenemulsion benutzt, so gelingt es, sehr lange, verschiedenartig verschlungene, oben als filz- oder zopfartig bezeichnete Fäden vereinzelt zu beobachten. Die Fäden sind meistens ausgestreckt; wellenförmig verlaufende Krümmungen werden seltener beobachtet. Auch im hängenden Tropfen sind die Fäden deutlich sichtbar.

Nach einer noch nicht festgestellten Zeit werden die Fäden des Pilzes dünner, ihre Färbbarkeit nimmt ab und sie zerfallen in einzelne stäbchenförmige Gebilde von verschiedener Länge. Falls die Wanzen aber von Zeit zu Zeit mit Blut von gesunden Mäusen ernährt werden, so sind die Fäden ziemlich lang. Die bisherigen Beobachtungen wurden während 30 Tagen fortgesetzt.

In seinem Aufsätze über die Spirochäten in dem bekannten Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann (Bd. III. p. 84) teilt A. Wladimiroff auf Grund eines Briefes von R. Koch mit, daß es dem letzteren gelang, Spirochäten in Form von

Fäden zu kultivieren, die den Fäden der Milzbrandstäbchen ähnelten und dick verfilzt waren. Die Spirochäten behielten ihre spiral- oder wellenförmige Gestalt. Diese Beobachtung ist aber bis jetzt unveröffentlicht geblieben. Im Jahre 1905 schrieb R. Koch (Deutsche med. Wochschr. 1905. No. 47 und Berliner klin. Wochschr. 1906. p. 185), daß die Spirochäten des afrikanischen Rückfallfiebers sich im Körper der Zecken *Ornithodoros moubata* Murray vermehren. Die letzteren funktionieren als Krankheitsüberträger. Die mit dem Blute zusammen aufgesogenen Spirochäten verschwinden daraus nach einigen Tagen und sammeln sich auf der Oberfläche des Ovariums, wo man sie als knäuelartige Gebilde auffinden kann.

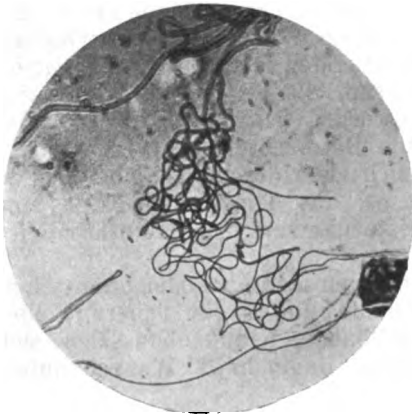


Fig. 1.

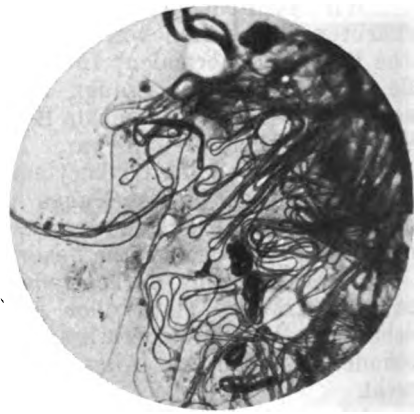


Fig. 2.

Fig. 1. Präparat aus dem Inhalte einer Wanze, 5 Tage nach der Infektion, mit Kochsalzlösung verdünnt. Vergrößerung 1000.

Fig. 2. Präparat aus dem Inhalte einer mit Rekurrenspirochäten infizierten Wanze, ohne Verdünnung, 15 Tage nach der Infektion. Vergrößerung 1000.

Unsere Präparate wurden in der Sitzung der Petersburger mikrobiologischen Gesellschaft vom 11. (24.) Mai demonstriert.

Für die Anfertigung der oben beigegeführten Photogramme einiger meiner Präparate drücke ich Herrn N. M. Berestneff meinen aufrichtigsten Dank aus.

Nachdruck verboten.

Note sur quelques trypanosomes de grenouilles et de poissons dans l'Ubangi.

[Médecin de l'État Indépendant du Congo.]

Par J. Rodhain.

Avec 8 figures.

I. Trypanosomes de grenouilles.

Parmi 6 variétés ou espèces différentes de grenouilles du bas-Ubangi dont nous avons pu examiner le sang, trois furent trouvées plus ou moins fréquemment infectées de Trypanosomes.

La détermination zoologique exacte de ces animaux sera faite ultérieurement.

Chez toutes les grenouilles parasitées nous avons retrouvé des formes pectinées et plates du *Trypanosoma rotatorium*. Les dimensions des formes plissées atteignaient en longueur 36 à 37 μ , en largeur 8 à 10 μ ; la partie libre du flagelle n'avait en moyenne que 5 μ .

A côté de ces formes existaient souvent celles décrites par Dutton et Todd sous le nom de *Mega*. L'extrémité postérieure des types que nous avons vus était peut-être un peu moins allongée que ne la figure le dessin de Mesnil et Laveran. Chez certains individus, en avant de l'espace clair qui précède le noyau, il existe une série de granulations violettes foncées disposées parfois en bande transversale. D'autres granulations mais beaucoup plus pâles sont groupées autour du centrosome ou disséminées sur toute l'étendue de l'extrémité postérieure.

Nous avons mesuré des exemplaires ayant une longueur totale de 78,5 μ dont 15 μ pour la partie libre du flagelle, le corps protoplasmique ayant 10 μ de largeur au niveau du noyau.

Bien distinctes de ces formes et souvent dans la même préparation, nous avons rencontré une variété beaucoup plus étroite et qui nous semble correspondre au *Trypanosoma karyozeukton* de Dutton et Todd.

Le corps protoplasmique ne mesure que 2,5 à 4,5 μ de large au niveau du noyau. Celui-ci ovulaire nettement coloré est situé à la réunion des $\frac{2}{3}$ antérieurs avec le $\frac{1}{3}$ postérieur du corps. En arrière de lui et rapproché de l'extrémité postérieure se trouve le centrosome. Entre le centrosome et le noyau, il existe chez certains individus une chaîne de granulations d'une teinte rouge pâle.

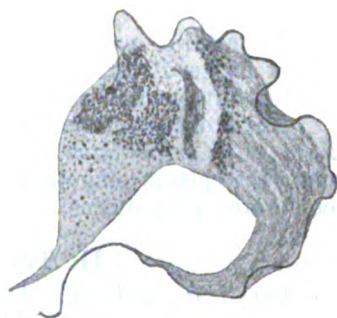


Fig. 1. Trypanosome type Méga.
(Kor. $\frac{1}{15}$ ocul. compens. 8.)



Fig. 2. Trypanosome type Karyozeukton.
(Kor. $\frac{1}{15}$ ocul. compens. 8.)

Le corps protoplasmatique présente des stries longitudinales qui s'étendent jusque près du centrosome, la partie terminale en pointe restant beaucoup plus claire.

Le parasite se présente en général incurvé fortement sur lui même.

La figure 3 montre encore une autre forme dont nous n'avons vu que trois exemplaires. C'est une forme plate, allongée dont l'extrémité postérieure se termine en pointe. Le noyau n'est représenté que par un gros grain de chromatine rouge situé tout près du centrosome.

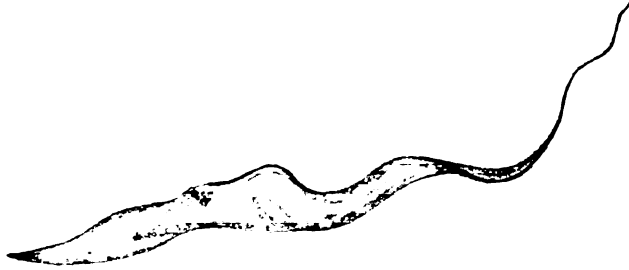


Fig. 3. Trypanosome forme plate.
(Kor. $\frac{1}{15}$ ocul. compens. 8.)

De celui-ci part le flagelle bordant la membrane ondulante sans plis et ne se distinguant pas du corps protoplasmatique coloré en bleu.

Les dimensions vont jusque $65,5 \mu$ de long sur 5μ de large.

L'existence simultanée dans un même sang des variétés spéciales *Mega* et *Karyozekton* à côté des formes ordinaires du *Trypanosoma rotatorium* plaide singulièrement en faveur de l'unité d'espèce de toutes ces formes parasitaires.

II. Trypanosomes de poissons.

Parmi les poissons du fleuve pêchés à Libenge trois espèces se montrent plus ou moins régulièrement parasitées.

Deux appartiennent à la famille des *Cyprinidae* et sont du genre *Labeo*¹⁾.

L'autre est le *Malopterurus electricus* de la famille des *Siluridae*.

1. Trypanosome du *Labeo macrostoma* (nom indigène sango: N'Gande).

1) Comme chez le brochet d'Europe, il existe dans le sang de ce poisson, sinon deux espèces distinctes de trypanosomes, du moins deux variétés différentes.

La petite variété se présente à frais comme un vermicule étroit à mouvements très rapides se tortillant sur lui même et ne se déplaçant que très peu dans le sens de la longueur. La membrane ondulante en paraît très étroite et l'extrémité postérieure effilée. Les préparations colorées au Laveran montrent un organisme qui mesure $30,6 \mu$ de long sur $1,5$ à 2μ de large en moyenne. Les plus grands individus atteignent $35,7 \mu$ alors que les plus petits n'ont que $24,6 \mu$. La longueur moyenne de la partie libre du flagelle est de 9 à 10μ .

1) Boulenger, G. A., Les poissons du bassin du Congo. (Publication de l'État Indépendant du Congo.)

Comme chez le trypanosome de Remak variété parva; le corps protoplasmique se colore faiblement en bleu et ne montre aucune granulation chromatique.

Le noyau allongée est médian ou situé dans la moitié antérieure du corps. Au centrosome assez gros, placé tout près de l'extrémité postérieure aboutit le flagelle qui borde la membrane ondulante étroite pouvant présenter plusieurs plis.

La grande variété apparaît à frais comme un vermicule réfringent. En se mouvant, en même temps qu'ondule la membrane, le corps se courbe et recourbe sur lui-même de façon à présenter sur sa longueur plusieurs inflexions à la fois.

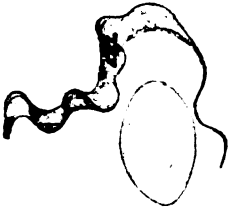


Fig. 4.

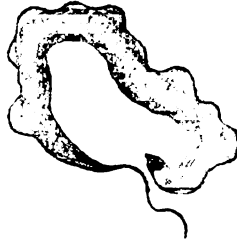


Fig. 5.

Le flagelle libre paraît court.

Les dimensions moyennes du parasite coloré sont de $49,8 \mu$ de long sur $2,5$ à 3μ de large. Le flagelle libre mesure environ 13μ . La forme la plus grande que nous ayons mesurée avait $61,2 \mu$ de long.

Le corps protoplasmique se colore en bleu foncé sans granulations.

Le noyau sensiblement médian est ovalaire et prend une teinte violet clair. Le centrosome est très rapproché de l'extrémité postérieure. La membrane ondulante est plissée.

Nous avons toujours trouvé les 2 formes l'une à côté de l'autre. Les petits parasites sont en général beaucoup plus nombreux que les grands qui sont très rares. Nous avons rarement vu des formes de division longitudinales chez la petite variété.

Six poissons sur 7 étaient infectés.

Comme pour le trypanosome du brochet d'Europe se pose ici la question de l'unité ou de la dualité d'espèce de ces deux formes parasitaires. Les différences morphologiques ne permettent pas de conclure.

2) A côté de ces trypanosomes on rencontre dans le sang de ce même poisson une protozoaire beaucoup plus grand et qui nous semble appartenir au genre *Trypanoplasma*.

Dans une goutte de sang frais il apparaît comme un organisme réfringent, allongé et applati à grosse extrémité antérieure.

Il se plie et se replie vivement sur lui-même, s'élargit brusquement et devient transparent, puis se tend pour reprendre la forme allongée.

L'extrémité antérieure est plus large que l'extrémité postérieure et présente souvent au milieu une fente plus claire.

De cette extrémité partent les ondulations de la membrane, mais une ondulation complète ne s'achève pas avant que les mouvements amoéboïdes du corps lui-même ne commencent.

L'organisme se déplace peu et avance légèrement dans le sens de la grosse extrémité.

Quand les mouvements du parasite se ralentissent dans le sang prélevé depuis plusieurs heures, le corps apparaît granuleux. Il a pris une forme nettement incurvée, des ondulations partant de l'extrémité antérieure courent le long du bord convexe vers l'extrémité terminale. Le parasite se recourbe et s'étend encore en longueur mais ne s'élargit plus que rarement.

La coloration de Romanowsky d'après le procédé de Laveran met en évidence deux masses chromatiques.

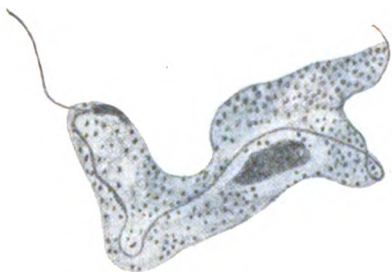


Fig. 6. Trypanoplasme du *Labéo macrostoma*.

L'une coloré en violet foncé est toujours périphérique et dans les formes incurvées située près du bord concave. Elle est en général allongée, par fois étirée en deux ou trois bâtonnets qui se suivent. Elle représente le blépharoplaste.

L'autre plus volumineuse souvent teintée en violet plus clair, d'une forme ovoïde allongée est rarement périphérique: c'est le noyau. Dans les formes courbées du parasite, noyau et blépharoplaste sont situés dans la grosse extrémité antérieure.

Le corps protoplasmique se colore en bleu et apparaît très finement granuleux. Dans les formes étalées amoeboïdes, certaines parties restent plus claires que d'autres alors que la forme incurvée présente souvent une fente claire courant au milieu du corps. Certains parasites portent de nombreuses granulations violettes parsemées dans tout le protoplasme. L'ensemble du parasite présente les formes amoeboïdes les plus diverses; la forme vieille courbée à grosse extrémité antérieure va en s'amincissant progressivement vers l'extrémité terminale qui se recourbe et finit en pointe mousse.

Du blépharoplaste partent deux flagelles. L'un antérieur libre d'emblée est court et ne mesure que 7 à 10 μ de long.

L'autre postérieur est plus long et souvent difficile à suivre sur tout son trajet. Chez la plus part des parasites un peu altérés qui ont pris une forme incurvée il ne se colore plus. Quand il est visible, il part du blépharoplaste et se dirige en arrière en décrivant une courbe vers le côté convexe du parasite. Il ne devient libre que tout près de l'extrémité postérieure. Les ondulations qu'il peut présenter sur son trajet sont toujours larges, la membrane ondulante qu'il borde n'est pas distincte du corps protoplasmique. Chez les formes amoeboïdes le flagelle apparaît comme accolé sur le protoplasme, il décrit un trajet irrégulier présentant une première courbe qui le rapproche du noyau qu'il contourne ou paraît traverser.

La partie libre de ce flagelle est toujours très courte: 4 μ en moyenne.

Chez certains individus on voit partir du blépharoplaste, à côté des flagelles, un ou deux filaments rouges très minces qui décrivent une courbe dirigée dans le sens du flagelle et se terminent près du bord opposé à celui de la membrane ondulante. Ces filaments correspondent probablement à ceux décrits par Léger chez le trypanoplasme du vairon.

Nous avons vu quelques formes on il y avait dédoublement manifeste du noyau.

Les dimensions du parasite peuvent atteindre jusque $53,5 \mu$ dans le sens de la longueur et $16,7 \mu$ dans le sens de la largeur. Des formes plus petites mesurent encore 33μ de long et $11,5 \mu$ de large au niveau de l'extrémité antérieure.

Tous les poissons examinés 7 sur 7 avaient ce trypanoplasme dans le sang.

Les parasites sont en général assez rares dans la circulation. Les animaux infectés ne paraissent nullement malades. Il est intéressant de remarquer que c'est encore dans le sang d'un poisson appartenant aux *Cyprinidae* que nous avons rencontré ce trypanoplasme qui paraît bien constituer une espèce nouvelle du genre.

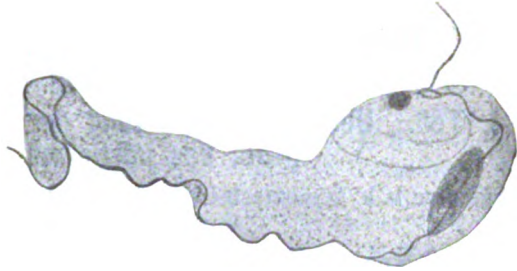


Fig. 7. Trypanoplasme du *Labéo macrostoma* forme allongée.

2. Trypanosome du *Labeo Zalzifer* (Sukuru).

Nous n'avons rencontré de parasites flagellés dans le sang de ce poisson qu'une fois sur 4. Les trypanosomes étaient toujours très rares.

Ils ressemblaient à frais à ceux du *Malopterurus* mais paraissaient plus grands.

Ils ne furent pas retrouvés dans les préparations colorées.

3. Trypanosome du *Malopterurus electricus*.

Deux poissons sur trois examinés étaient infectés.

Le trypanosome à frais reste presque constamment replié sur lui même.

Dans les préparations colorées, il se présente comme un organisme ayant comme dimensions moyennes: $39,5 \mu$ de longueur sur $3,4 \mu$ de largeur. La partie libre du flagelle mesure 9 à 10μ .

Le protoplasme est coloré intensément en bleu sans granulations chromatiques.

Le noyau ovalaire médian, se colore en rouge lilas. Le centrosome est situé près de l'extrémité postérieure qui se termine en cône obtus.

La membrane ondulante est plissée.

Nous n'avons pas rencontré de formes de division du parasite qui était toujours rare dans le sang.



Fig. 8. Trypanosome du *Malopterurus electricus*.
(Kor. $\frac{1}{15}$ ocul. comp. 8.)

Nachdruck verboten.

Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre.

I. Teil. Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Universität Krakau.
Vorstand: Prof. Bujwid.]

Von Dr. Philipp Elsenberg, Assistenten am Institut.

*In minimis tota existit natura.
Malpighi.*

(Schluß.)

Alle diese zahlreichen Beispiele beweisen in unzweideutiger Weise, daß die Immunisierung gegenüber einer gewissen Infektionserkrankung noch keineswegs auch eine Immunität gegenüber dem betreffenden Krankheitserreger bedeutet, daß der Organismus die Krankheit überwinden kann, ohne alle ihre Erreger abzutöten. Auch im Bereiche der Protozoenerkrankungen begegnen wir denselben Erscheinungen. Kochs Untersuchungen über die afrikanische Nagana haben dargetan, daß das Rindvieh sowie das Wild nach durchgemachter Erkrankung oder auch ohne eine solche jahrelang Trypanosomen in ihrem Blute beherbergen kann, wodurch eine unerschöpfliche Infektionsquelle für das gesunde Vieh dauernd unterhalten wird. Weiter zeigten Schilling sowie Kleine und Möllers, daß gegen die Nagana immunisierte Tiere lange Zeit infektiöses Blut haben, trotzdem ihr Serum *in vitro* trypanozid und im Tierexperiment prophylaktisch wirkt. Dasselbe fand Schilling bei der Surra und Francke beim Mal de Caderas. Ähnlich verhalten sich weiter die Piroplasmosen des Rindes und des Hundes, das Texasfieber sowie das afrikanische Küstenfieber (Kossel, Schütz, Weber und Miessner, Theiler, Nuttall, Klein, Dschunkowsky, Robertson). Auch die menschliche Malaria mit ihren vielen Rückfällen nach langen Intervallen scheinbarer Heilung dürfte wohl sich analog verhalten. Daher kommt denn auch Koch zu dem Schluß, daß in allen Protozoenerkrankungen die Parasiten sich lange Zeit im immunisierten resp. geheilten Tier zu halten vermögen und erblickt darin sogar den wichtigsten Punkt der Epidemiologie dieser Prozesse, der übrigens auch alle Versuche einer aktiven Immunisierung illusorisch erscheinen läßt.

Also im ganzen weiten Bereich verschiedenster Infektionsprozesse dasselbe paradoxe Phänomen: Immunität gegen eine Infektionskrankheit ist nicht gleichbedeutend mit der Immunität gegen den Erreger. Es schwindet wohl die Krankheit, doch nicht der Mikrobe aus dem infizierten Organismus. Ja mehr noch — der Organismus mobilisiert gegen den Erreger spezifisch bakterizide Stoffe, er produziert Opsonine und bakteriotrope Substanzen, die seine Phagaytose ermöglichen, sein Serum zeigt sich *in vitro* oder in einem anderen Tierkörper bakterizid gegen den betreffenden Keim, und dennoch führt dieser innerhalb des Organismus in demselben Blut resp. in den Organen ungestört seine Existenz durch Wochen, Monate oder Jahre fort, eine Existenz, die sogar zuweilen für den scheinbar „immunisierten“ Organismus nicht bedeu-

tungslos ist. Ist dem aber so, erweisen sich all diese Schutzmittel als wirkungsvoll außerhalb des Organismus, wenn sie unseren Laboratoriums-keimen gegenüberstehen, und versagen sie gegenüber den „eigenen“ im infizierten resp. immunisierten Organismus, so muß wohl ein durchgreifender Unterschied bestehen zwischen diesen beiden Arten von Mikroorganismen, so müssen die einen Eigenschaften aufweisen, die den anderen abgehen. Diese logische Konsequenz, die sich aus der oben besprochenen Tatsachenreihe von selbst ergibt, findet auch volle Bestätigung sowohl im klinisch-bakteriologischen als experimentellen Tatsachen, die nunmehr uns beschäftigen sollen.

Als die epochemachenden Entdeckungen von Pasteur und Koch in den Bakterien die Erreger der Infektionskrankheiten nachgewiesen hatten, als die neugeschaffene Technik es ermöglichte, sie außerhalb des Organismus zu züchten und mit ihren künstlichen Kulturen das Krankheitsbild zu reproduzieren, schien es im ersten Siegesrausch, daß das Problem der Krankheit bereits gelöst sei. Es ist daher nicht zu verwundern, daß in dieser ersten Epoche unserer Wissenschaft die Bakterien einseitig auf den ersten Platz in der Krankheitsgleichung vorgeschoben wurden. Es war für unsere Disziplin ein glücklicher und zugleich ein unglücklicher Zufall, daß der erste eingehend studierte pathogene Keim der Milzbrandbacillus war; seine exquisit parasitischen Eigenschaften sowie der hohe Virulenzgrad für die gewöhnlichen Versuchstiere lassen es als verständlich erscheinen, daß für die Forscher jener Epoche das Bakterium zugleich Krankheit bedeutete, daß sie meinten, wo der Erreger vorhanden sei, müsse auch die Krankheit auftreten. Nur allmählich gelang es der seit Jahrhunderten gesammelten empirischen ärztlichen Beobachtung und dem wachsenden klinischen und experimentellen Tatsachenmaterial die Erkenntnis zu reifen, daß außer den Bakterien im Mechanismus der Infektionskrankheit noch ein anderer nicht minder wichtiger Faktor zu berücksichtigen ist — der infizierte Organismus mit dem ganzen wundervollen und schwer ergründlichen Komplex der Elemente, den wir, um unsere Unwissenheit zu beschönigen, individuelle Disposition nennen — jener Mikrokosmos, auf der ganzen persönlichen, Rassen- und Gattungsvergangenheit aufgebaut, durch das lebhafteste Zusammenspiel von tausend Kräften regiert. Doch auch diese Formel hat sich noch als zu eng — zu wenig biologisch gedacht erwiesen. Experimentell-pathologische Untersuchungen über Entzündung und Fieber, die Entdeckung der antitoxischen und bakteriziden Immunität sowie der Schutzimpfungen haben gezeigt, daß das Infektionsproblem noch weiter gefaßt werden muß, daß die statische Betrachtungsweise dieses Problem nicht erschöpfen kann, da jedes Leben, folglich also auch die Krankheit, die selber auch ein Stück Leben ist, als Bewegung und als Kraftwechsel aufgefaßt werden muß. Es folgt daraus, daß nur die dynamische Auffassung der Infektion ihrer komplexen Natur gerecht wird und daß der übliche Vergleich der Infektion mit einem Kampf etwas mehr ist als eine gelungene Hyperbel. Der infizierte Organismus setzt nicht nur seine präformierten natürlichen Schutzkräfte in Tätigkeit, die physikalischen und chemischen sowohl wie die humoralen und cellulären, er entwickelt nicht nur eine Abwehrreaktion, deren Qualität und Ergiebigkeit durch seine individuelle Physiognomie wie durch sein Familienerbteil bedingt wird, sondern er schafft sich auch im Verlauf des Kampfes neue Schutzmittel und steigert die bestehenden, um sich den neuen pathogenetischen Bedingungen möglichst anzupassen.

Doch ist damit erst der eine Teil einer Dynamik der Infektion gegeben — darf man den anderen daran beteiligten Faktor als einen fixen unveränderlichen Wert betrachten? Keineswegs! Wenn wir auch in den meisten Fällen das Wesen der pathogenetischen Wirkung der Bakterien in der Wirkung ihrer spezifischen Gifte erblicken müssen, so kann man doch vom Standpunkte der Pathologie die pathogenen Bakterien unmöglich mit irgendwelchem aus der Pharmakologie bekannten Gift in eine Reihe stellen, da wir es hier mit lebenden Wesen von wechselnden Eigenschaften zu tun haben, die in hohem Maße zu weitgehendsten Anpassungen befähigt erscheinen. Die Existenz von Arten, die an extrem differente Sauerstoffspannungen angepaßt sind, oder an Temperaturen, die um 70°C voneinander differieren, oder endlich an diametral verschiedene Ernährungsweisen, die experimentell erzeugten Anpassungen an diverse Faktoren, die oft schon in einigen Generationen zu erreichen sind, endlich die tägliche Laboratoriumserfahrung sind ein beredtes Zeugnis für die ganz ungewöhnliche Anpassungsfähigkeit dieser Lebewesen, für eine Plastizität des Protoplasmas, die in der ganzen Lebewelt ihresgleichen sucht. Es ist nun verständlich, daß solche Wesen im infizierten Organismus sich durchaus nicht passiv verhalten werden, in einem Milieu, das auf sie durch eine ganze Reihe von Faktoren energisch einwirkt, daß sie nach Möglichkeit sich daran anpassen werden und zwar nicht nur an die Schutzmittel, die sie im Moment des Eindringens drin fertig vorfinden, sondern auch an die Kampfesmittel, die der Organismus erst während der Infektion sich schafft. Das Problem wird also immer komplizierter; wir haben es in der Infektionsgleichung nicht mit zwei unveränderlichen Faktoren, mit zwei wohldefinierten Größen zu tun, sondern mit zwei komplexen Systemen variabler Größen, die aufeinander einwirken und innerhalb ziemlich weiter Grenzen sich bewegen können, die durch den Gattungsscharakter der Bakterien einerseits, des Organismus andererseits vorgezeichnet werden. Und bedürfte es schon wahrlich des Genius eines Laplace, um aus allen diesen Faktoren die analytische Formel der Infektion aufzustellen, aus der man ihren Verlauf und Ausgang vorhersagen könnte, so müßte es wohl schon ein Wundertäter sein, der diese Aufgabe am Krankenbett, wo so viele Faktoren uns unbekannt und unserer Erkenntnis unzugänglich sind, exakt lösen sollte — eine Aufgabe, die dem Arzt doch täglich zugemutet wird. Im infizierten Organismus begegnen die Bakterien der bakteriziden Wirkung der Körpersäfte, dem Heer der Phagocyten, die sie aufnehmen, verdauen und ihre Säfte neutralisieren, sodann einer ganzen Reihe anderer bisher wenig erforschter physikalisch-chemischer Agentien. Indem sie nun an alle diese Einrichtungen sich anpassen, werden die Bakterien resistent gegen die Säftebakterizidie, die Phagocytose und die anderen weniger bekannten Faktoren. Je länger dieses gegenseitige Aufeinanderwirken dauert, desto vollkommener und zweckmäßiger wird die Anpassung der Bakterien, die entstehenden Generationen werden immer resistenter, und gleich wie an ein Antiseptikum angepaßte Bakterien in einer für sie vordem tödlichen Lösung gedeihen können, ebenso wird für diese Keime der Organismus trotz all seiner Schutzmittel zu einem günstigen Substrat für ungehindertes Wachstum.

Außer dem Faktor der Anpassung kommt zweifellos im infizierten Organismus noch ein anderer zur Geltung, der mit ihm zusammenwirkt und zum Teil für ihn Material vorbereitet — es ist dies die Auslese, die die bakterienfeindlichen Mittel des Organismus unter den infizieren-

den Keimen bewirken — die Tatsache, daß in diesem Kampf ums Dasein, den die Infektion für die Bakterien vorstellt, nur die leistungsfähigsten, resistantesten Individuen bestehen können und daß es daher nur ihnen gelingen kann, im infizierten Organismus sich zu vermehren und sich daran weiter anzupassen. Täglich lehrt uns Experiment und Beobachtung, daß hinter der scheinbaren Einförmigkeit und morphologischen Armut der Bakterienkulturen eine reiche Mannigfaltigkeit sich verbirgt; bei demselben Färbeverfahren färbt sich ein Teil der Individuen stärker, der andere schwächer, bei der Entfärbung werden die einen den Farbstoff behalten, die anderen ihn abgeben, die einen bereiten sich zum Teilungsvorgang, die anderen sind soeben daraus hervorgegangen, ein Teil endlich ist vielleicht schon abgestorben. Dieser morphologischen Vielgestaltigkeit entspricht eine nicht minder entwickelte biologische Mannigfaltigkeit in funktioneller Hinsicht, eine ganze Skala verschiedener Funktionstüchtigkeit und Anpassungsfähigkeit. Die Experimente über die Wirkung dysgenetischer Faktoren zeigen, daß nicht alle Individuen einer Bakterienkultur sich ihnen gegenüber gleich resistent zeigen; setzen wir z. B. 1000 Bakterien einer Temperatur von 55° aus, so werden etwa 400 am Leben bleiben, bei 60° nur 100, bei 65° nur 10 und endlich bei 70° nur mehr eine. Dieselbe Resistenzskala besteht zweifellos gegenüber den bakterienfeindlichen Mitteln des Organismus. In einer vor einem Jahre publizierten Arbeit konnte ich nachweisen, daß in jeder Bakterienkultur Individuen von verschiedener Agglutininempfindlichkeit enthalten sind, und daß die Differenzen dieser Empfindlichkeit das 10—20-fache betragen können. Aber die Agglutinine, wenn gleich ein Reaktionsprodukt des Organismus, haben keinen direkten Zusammenhang mit der Immunität; wir haben jedoch auch direkte Beweise dafür, daß eine Bakterienkultur eine ganze Stufenleiter verschiedener Empfindlichkeit gegenüber normalen und spezifischen Bakteriolyse darstellt. Im klassischen bakteriziden Plattenversuch nach Buchner erhalten wir sterile Platten, wenn wir ein genügend starkes Serum verwenden, dagegen bleibt ein Teil der Bakterien am Leben, wenn wir ein schwächeres Serum oder eine geringere Menge davon einwirken lassen. Hier bewirkt also das Serum *in vitro* eine Auslese unter den Keimen, indem es nur die resistenten überleben läßt — dasselbe geschieht natürlich auch im infizierten Tierkörper und als Produkt einer derartigen Auslese entsteht im weiteren Infektionsverlauf eine mehr oder minder resistente Rasse, die ihre Widerstandsfähigkeit noch durch Anpassung steigert und sie erblich auf weitere Generationen überträgt.

Es erübrigt sich wohl, des näheren zu erklären, welche Bedeutung für die Infektionstüchtigkeit der Organismen diese Veränderungen im Tierkörper haben müssen. Welche Ansicht wir auch über den Mechanismus der Krankheitserregung durch die Bakterien haben mögen — und mehr als eine Frage bleibt hier noch zu lösen — jedenfalls bedarf es einer gewissen Anzahl von Keimen, um direkt oder vermittelt ihrer Gifte Krankheitserscheinungen auszulösen. Wenn wir in einen zu infizierenden Organismus eine kleine Menge von Bakterien einführen oder wenn sie in denselben durch irgend eine Pforte hereingelangen, so wird immer ein gewisser Teil davon den bakteriziden Wirkungen zum Opfer fallen, derjenige natürlich, der ihnen den geringsten Widerstand entgegensetzt, und erst der Rest wird dazu gelangen, sich zu vermehren und seine pathogenetischen Funktionen zu entfalten. Je resistenter die eingeführten Keime sind, resp. je mehr von den resistenten sich darunter

befinden, desto schneller und leichter erfolgt die Infektion mit ihren Folgen. Wir sehen also, daß die Resistenz, die die Bakterien im Verlaufe der Infektion erwerben, die Grundlage abgibt für ihre pathogenetisch bedeutungsvollste Eigenschaft: die Virulenz; der Grad dieser Resistenz, d. h. der zuvor bestehenden resp. neuerworbenen wird einen Maßstab abgeben können für die Virulenz des betreffenden Stammes. Wie bekannt, beurteilt man die Virulenz nach der geringsten Menge des Infektionsstoffes, die nötig ist, um Infektion resp. den Tod des Versuchstieres herbeizuführen. Injizieren wir z. B. eine geringe Menge einer wenig virulenten Kultur, so können alle Keime vom Organismus abgetötet werden und eine Infektion kommt nicht zu stande; unter derselben Anzahl von Individuen einer virulenteren Kultur kann z. B. die Hälfte der Bakterizidie erliegen, während die andere ihr widersteht, sich vermehrt und eine Infektion herbeiführt. Nach dem Gesagten ist es wohl verständlich, warum Tierpassagen die Virulenz von pathogenen Keimen erhöhen; in jedem infizierten Tiere, das die Keime passieren, geht eine stufenweise sich vervollkommnende Anpassung an die Abwehrkräfte vor sich. Die Folge davon ist, daß, während im Anfangstier ein bedeutender Teil der eingeführten Bakterien diesen Kräften erlag, am Ende der Serie die angepaßten Bakterien größtenteils ihnen widerstehen und sich von Anfang an widerstandslos vermehren können.

Damit jedoch unsere Erklärung allen bekannten Tatsachen gerecht wird, müssen noch zwei Einschränkungen gemacht werden. Es ist selbstverständlich, daß die besprochene Anpassung, sofern es sich um eine Erhöhung der Virulenz handelt, ihre natürlichen Grenzen in der spezifischen keimplasmatischen Beschaffenheit der betreffenden Bakterienart findet. Der Heubacillus, normalerweise ein Saprophyt, kann unter besonderen Umständen beim Menschen eine Panophthalmie hervorrufen oder, in sehr großer Menge eingespritzt, sogar ein Versuchstier zu Falle bringen, doch wird er nie den Virulenzgrad erreichen, der nötig ist, um in der Anzahl von einem Individuum in den Tierkörper eingeführt, ihn zu töten, wie es z. B. ein *Streptococcus* oder ein Hühnercholera-bacillus vermag. Unter welchen Umständen einst gewöhnliche Saprophyten sich zu Parasiten umgewandelt haben, läßt sich kaum mehr feststellen und die experimentelle Rekonstruktion dieses Prozesses ist nur in sehr beschränktem Maße möglich. Während jedoch die Virulenz-erhöhung nach dem soeben Gesagten nicht unbegrenzt sein kann und oft im Experiment auf bedeutende Schwierigkeiten stößt, geht der umgekehrte Prozeß der Virulenzherabsetzung nur allzuleicht von stattem — oft sogar gegen den Willen des Experimentators — und es folgt daraus, daß für viele pathogene Arten die Krankheitserregung eine Erwerbung relativ jungen Datums darstellt, schwer zu erhalten und leicht zu verlieren. Ein längerer, zuweilen sogar ein kurzer, Aufenthalt außerhalb des Tierkörpers, fern von jenen Reizen, die die Anpassung der Bakterien provozieren und sie unterhalten, führt zu einer Abschwächung oder sogar zum Verlust der Virulenz. Daher sind denn auch unsere Laboratoriumsbakterien, die wir von Agar zu Agar überimpfen, sehr verschieden von jenen, die das Interesse des Pathologen oder Internisten fesseln, von den im infizierten Körper entwickelten Bakterien, sie sind Degenerationsprodukte, oder, wenn Jemand will, Rückschlagsformen zu den einst harmlosen Ahnengenerationen. Die Schlußfolgerungen, die wir aus der Beobachtung dieser entarteten Rassen ziehen, sind nur mit großem Vorbehalt auf jene eigentlichen Feinde des menschlichen Organismus

zu übertragen. Nur, sofern wir in der Kultur die Bedingungen des infizierten Organismus nachzuahmen trachten, indem wir z. B. auf Blut oder Serum züchten und auf diese Weise eine Kontinuität des Anpassungsreizes gewährleisten, können wir bis zu einem gewissen Grad dieser Entartung vorbeugen, die Bakterien in ihrem infektionstüchtigen Zustand erhalten.

Die andere Einschränkung, nicht minder wichtiger als die erste, betrifft die Tatsache, daß jede Virulenz ein relativer Begriff ist, der das pathogenetische Verhältnis einer bestimmten Bakterienart gegenüber einer — und nur einer — Tierart unter gewissen Umständen ausdrückt. Umfassende biochemische Erfahrung, basiert zum Teil auf Immunitätsexperimente in vitro und in vivo, zum Teil auf die spezifische Präzipitinmethode, beweist, daß der morphologischen Verschiedenheit diverser Tierarten ebenso charakteristische und bedeutsame biochemische Differenzen im Aufbau und Charakter der Zellen und Körpersäfte entsprechen. Jeder Organismus hat seine chemische Eigenart und verfügt über spezifische Abwehrmittel, die ihm eigen sind; indem die Bakterien sich daran anpassen, erlangen sie eine ganz spezifische Anpassung gerade an diesen Organismus, erhöhen ihre Virulenz besonders ihm gegenüber, nicht aber gegenüber allen Tierarten im allgemeinen. Es leuchtet wohl ein, daß zuweilen die Virulenzhöhung für eine Tierspecies zugleich auch eine solche gegenüber einer anderen, ihr mehr oder weniger verwandten bedeuten kann, sofern diese beiden Arten über ähnliche oder identische Abwehrmittel verfügen, wir kennen jedoch auch Beispiele, daß für eine Tierart hochvirulente Bakterien für eine andere ihr nahe verwandte unschädlich sind — zuweilen selbst für eine andere Rasse derselben Art (die Immunität algerischer Schafe gegen Milzbrand). Ja es kann vorkommen, daß ein Bakterienstamm durch wiederholte Passagen innerhalb einer Tierart die Virulenz für diese Tierart in bedeutendem Maße steigert, dagegen die Virulenz für eine andere Tierart einbüßt, für die er zuvor virulent war (Hühnercholera bei Hühnern und Meerschweinchen, Lyssa bei Affen und Kaninchen, Schweinerotlauf bei Schweinen und Tauben einerseits, bei Mäusen und Kaninchen andererseits, Naganatrypanosomen bei Kaninchen und Meerschweinchen einerseits, bei weißen Mäusen andererseits).

Die Gesamtheit der hier auseinandergesetzten Anschauungen über das Wesen der Virulenz und Anpassung, die sich logisch aus den Grundeigenschaften des tierischen und bakteriellen Organismus ableiten lassen und die von Hueppe, Welch, Deutsch, mir und Anderen entwickelt wurden, fand vielfache Stütze und Begründung in klinisch-bakteriologischen sowie experimentellen Untersuchungen. Ihre Anzahl ist so groß, das Tatsachenmaterial so umfassend, daß ich mich begnügen muß, es nur ganz kurz in seinen Hauptergebnissen zu skizzieren, ohne auf die recht interessanten Details näher einzugehen. Im infizierten Tierkörper begegnen die Bakterien vor allem den normalen sowie Immunagglutininen; wenn nun auch nach unseren gegenwärtigen Anschauungen diese Funktion für die wirkliche Immunität nicht von Belang ist, so können doch die Agglutinine als Index der Immunitätsreaktionen gelten und die Anpassung an die Agglutinine geht Hand in Hand mit einer Anpassung an die eigentlichen Abwehrmittel des Organismus. Wir sehen also, daß frisch aus Blut, Roseolen, Milz, Mesenterialdrüsen, posttyphösen Abscessen oder Stuhl gezüchtete Typhusstämmen eine herabgesetzte Agglutinabilität zeigen, so daß sogar zuweilen Zweifel an ihrer typhösen Natur entstehen können.

Dieselben Stämme verlieren diese Resistenz und erlangen eine normale Agglutininempfindlichkeit, wenn sie außerhalb des Organismus einige Male auf künstlichen Nährböden umgezüchtet werden (Achard, Bensaude, Kolle, Johnston, und Mc Taggart, Van de Velde, Förster, Mills, Rodet, Tarchetti, Smith und Tenant, Horton Smith, Remlinger, Sacquépée, Mc Weeney, Nicolle und Trénel, Horrocks, Müller, Bancel, Courmont und Bancel, Eisenberg, Weil, Friedberger, Troussaint, Karwacki, Memmi, Curlo, außerdem Müller und Gräf bezüglich der Paratyphusbacillen). Gleichzeitig zeigt sich in Uebereinstimmung mit dem oben Gesagten die Virulenz dieser Stämme erhöht, so daß manche Autoren direkt ein umgekehrtes Verhältnis zwischen Virulenzgrad und Agglutinabilität annehmen. Aehnliche Verhältnisse wurden für Cholera-vibrionen (Pfeiffer und Kolle), Pneumokokken (Huber, Karwacki), Streptokokken (Neufeld), und Staphylokokken (Otto, Söllner) beschrieben; ich selber hatte Gelegenheit, herabgesetzte Agglutinabilität bei einem *Pyocyanus*-Stamm zu beobachten, den ich aus einem langdauernden tödlichen Fall von Wundinfektion herausgezüchtet haben. Daß diese verminderte Agglutininempfindlichkeit tatsächlich als Folge der Anpassung der Bakterien an die Agglutinine des infizierten Organismus zu betrachten ist, beweisen die Experimente von Ransom und Kitashima, Sacquépée, Walker, Müller, Morello, Hirschbruch, Knox und Mason, Steinhardt, die durch Züchtung verschiedener Bakterien in agglutininhaltigen Nährböden agglutininunterempfindliche Stämme erzielt haben. Bezüglich des Mechanismus dieser verminderten Agglutinabilität zeigen die Untersuchungen von Müller, Cole und meine eigenen, daß solche Stämme weniger Agglutinin binden, als normale, d. h. nach Ehrlich gesprochen — einen herabgesetzten Rezeptorengehalt für Agglutinine aufweisen,

Eine unvergleichlich größere Bedeutung kommt aber zweifellos der Anpassung an die eigentlichen bakteriziden Kräfte zu — und zwar vor allem an die Serumbakteriolyse des infizierten Organismus. Die Beobachtung, daß frisch aus dem Typhuskranken gezüchtete Typhusstämmen resistenter sind, als alte Laboratoriumsstämme, ist eigentlich schon alten Datums, doch wurde ihr nicht die gehörige Beachtung zu teil, da sie nur nebenbei aus Anlaß anderer Untersuchungen gemacht wurde. Noch im Jahre 1890 fand Haffkine, daß ein frisch aus einem Kranken gezüchteter Typhusstamm der bakteriziden Wirkung des Humor aqueus vom Kaninchen sich unzugänglich zeigt, welcher einen Laboratoriumstamm energisch abtötet; dasselbe fand einige Jahre darauf Kionka bei Verwendung von Menschenserum. Courmont fand, daß mit Bouillon verdünntes Blut von einem Typhuskranken 10 Tage lang das Wachstum eines eingesäten Laboratoriumstammes zu hemmen vermochte, während der eigene Stamm sehr gut darin gedieh. Vor vier Jahren habe ich, von den oben auseinandergesetzten Anschauungen über das Wesen der Virulenz und der Anpassung ausgehend, die Frage einer eingehenderen Prüfung unterzogen. Es war klar, daß gerade der Typhusprozeß die günstigsten Bedingungen bietet für die Feststellung, ob eine derartige Anpassung tatsächlich im infizierten Organismus vor sich geht; wir haben hier eine Infektion vor uns, die einige Wochen dauert, wo also die Dauer der gegenseitigen Beeinflussung von Organismus und Bakterien lang genug ist, um deutliche Anpassungseffekte zu zeitigen; sodann haben wir es mit Bakterien zu tun, die von normalem, Kranken-

sowie von Rekoneszenten Serum stark bakterizid beeinflusst werden. Die an vier frisch aus Kranken isolierten Stämmen durchgeführten bakteriziden Versuche haben denn auch die theoretischen Voraussetzungen bestätigt. Der Vergleich zwischen diesen Stämmen und einem alten Laboratoriumstamm hat ergeben, daß diese Stämme im Plattenversuch wie im hängenden Tropfen sich gegenüber Menschen-, Pferde- und Kaninchenserum mehr oder weniger resistent zeigen, sowie daß diese Resistenz menschlichem Serum gegenüber am ausgesprochensten ist in Uebereinstimmung damit, was oben über die Artspezifizität der Anpassung gesagt wurde. Diese meine Versuche wurden ein Jahr später mittels einer abweichenden Technik des bakteriziden Versuches von Stern und Korte, Quadroni sowie Mary Goodwyn bestätigt. Eppenstein und Korte haben sodann gezeigt, daß in dem Oxalatblut Typhuskranker die darin enthaltenen Typhusbakterien sich vermehren, während das Serum desselben Blutes energisch größere Quantitäten einer Laboratoriumskultur abtötet. Große theoretische und epidemiologische Bedeutung haben sodann die Untersuchungen von Besserer und Jaffé über Typhusstämmen aus dem Stuhl von Bacillenträgern; unter 5 solchen Stämmen haben 3 sich als „serumfest“, d. h. resistent gegen die Serumbakterizidie erwiesen. Diese Tatsache erklärt uns die Existenzmöglichkeit solcher Stämme in einem Organismus, der über normale resp. sogar gesteigerte Abwehrkräfte verfügt, andererseits aber beweist sie die Gefährlichkeit solcher resistenter, d. h. virulenter Stämme für den Träger selbst resp. für seine Umgebung. Die Existenz solcher Stämme hat außerdem, wie ich bereits vor 4 Jahren hervorgehoben habe, eine große Bedeutung für die spezifische biologische Diagnose des Typhus; bei einer hohen „Serumfestigkeit“ können derartige Stämme im Pfeifferschen Versuch ein negatives Resultat geben, wodurch die bisher als absolut betrachtete Zuverlässigkeit dieser Reaktion eine gewisse Einschränkung erleidet. Diese von mir theoretisch aufgestellte Möglichkeit hat seitdem in der bereits erwähnten Arbeit von Besserer und Jaffé sowie in derjenigen von Friedberger und Moreschi eine experimentelle Bestätigung gefunden; diese Arbeiten beweisen, daß tatsächlich echte Typhusstämmen unter Umständen im Pfeifferschen Versuch ihre Typhusnatur verleugnen können, was natürlich für die Typhusbekämpfung von nicht zu unterschätzender Wichtigkeit sein kann. Es ist selbstverständlich, daß zugleich mit dieser durch Auslese und Anpassung erworbenen Serumfestigkeit frisch aus dem infizierten Organismus gezüchtete Typhusstämmen auch einen beträchtlichen Grad von Virulenz aufweisen, sowie daß dieselbe mit der Dauer der Züchtung auf künstlichen Nährböden langsam, aber stetig abnimmt (Pfeiffer und Kolle, Friedberger, Curlo). Wir besitzen sogar einen direkten Beweis für die im infizierten Organismus vor sich gehende Anpassung: im Jürgenschen Falle, wo trotz exquisiter Immunitätsreaktion nach 7 Wochen ein Rezidiv auftrat, erwies sich der im Rezidiv aus dem Blut gezüchtete Stamm virulenter, als der während der ersten Krankheit daraus gezüchtete. Von prinzipieller Bedeutung ist ferner das von Gottschlich jüngst festgestellte atypische Verhalten der Cholerasträgerstämmen von El Tor im Pfeifferschen Versuch: trotz morphologisch scheinbar vollkommener Bakteriolyse vermag spezifisches Serum den Tod der Versuchstiere nicht hintanzuhalten augenscheinlich infolge der „Serumfestigkeit“ dieser Stämme oder wenigstens eines Teiles der Individuen. Diese Untersuchungen zeigen, daß auch für die Cholera der Pfeiffer-

sche Versuch nicht die absolute Zuverlässigkeit besitzt, die ihm bisher zugeschrieben wurde. Andererseits glaube ich, daß Gotschlich zu Unrecht seine Stämme als „degeneriert“ betrachtet, vom Standpunkt der Pathogenität dürfte man sie sogar auf eine höhere Stufe setzen als die normal serumempfindlichen „regelrechten“ Stämme. Daß dieses Verhalten der Typhusbakterien keine alleinstehende Tatsache ist, beweist meine Beobachtung, daß ein aus einer letalen Wundinfektion gezüchteter *Pyocyaneus*-Stamm sich im Plattenversuch wie im hängenden Tropfen der bakteriziden Wirkung menschlichen Serums (auch vom Kranken selbst) unzugänglich erwies, welches eine Reihe von Laboratoriumstämmen energisch beeinflusste. Es ist nicht zu bezweifeln, daß weitere derartige Untersuchungen auch bei anderen Infektionen anologe Fakta aufweisen dürften.

Außer diesem noch nicht allzu reichlichen klinischen Material vom Menschen verfügen wir über eine stattliche Reihe von experimentellen Tatsachen, die die Existenz der Anpassung der Bakterien an den infizierten Organismus klar dartun und welche dafür sprechen, daß wir es hier mit einem allgemeinen Gesetz im ganzen Bereich der Infektion zu tun haben, dessen Wichtigkeit für die Erklärung und das Verständnis des Infektionsmechanismus nicht hoch genug bis jetzt eingeschätzt worden ist. Es wurde zunächst festgestellt, daß die Serumresistenz diverser Stämme derselben Art in einem direkten Verhältnis steht zur Virulenz dieser Stämme: Pfeiffer und Kolle haben nachgewiesen, daß es zur Herbeiführung von Bakteriolyse virulenter Typhusstämmen im Meerschweinchenperitoneum einer größeren Menge spezifischen Serums bedarf, als zur Auflösung wenig virulenter Stämme. Dasselbe zeigt sich in den Versuchen von Pettersson; während im klassischen Pfeifferschen Versuch die Bakterien nach 30 Minuten aus der Bauchhöhle verschwunden sind, kann man bei Verwendung sehr virulenter Stämme noch nach 5—6 Stunden aus dem Exsudat Kulturen erlangen. Ähnlich verhalten sich Cholerastämme verschiedener Virulenz nach Bordet und Nadoleczny, Hühnercholera nach Leclef, Staphylokokken nach Van de Velde. Bezüglich der Pestbakterien haben Polverini und Martini festgestellt, daß ein gegen normal virulente Peststämmen wirksames Pestserum sich gegenüber höchstvirulenten Stämmen aus einer Pestpneumonie ganz unzulänglich zeigt. Ebenso fand Erben, daß ein recht wirksames Serum im Schutzversuch versagt, wenn man zur Infektion nicht Friedländersche Bakterien aus einer Kultur, sondern aus einem tierischen Exsudat verwendet.

Aber die Säftebakterizidie ist durchaus nicht die einzige Waffe des infizierten Organismus und neuere Erfahrungen schränken sogar, wie wir gesehen haben, ihre Bedeutung für die natürliche Abwehr ganz bedeutend ein. Dagegen tritt die Phagocytose immer mehr in den Vordergrund als wichtiges und schutzkräftiges Abwehrmittel. Die Feststellung, daß normale wie spezifische Sera durch Sensibilisierung der Bakterien die Phagocytose beträchtlich begünstigen resp. ermöglichen, steigert noch die Bedeutung dieses Schutzmechanismus. So konnte man denn von vornherein annehmen, daß die Anpassung der Bakterien an den infizierten Organismus, die die Infektion ermöglicht und begünstigt, auch die Anpassung an die Phagocytose und die sensibilisierende Wirkung der Oponine resp. bakteriotropen Substanzen umfassen muß. Diese Annahme folgt eigentlich als logische Konsequenz aus der Grundanschauung von Metschnikoff, welche besagt, daß, wenn der Organismus Herr

wird über die Infektion, er dies mittels Phagocytose erreicht, daß dagegen, wenn er erliegt, die Phagocytose ungenügend ist oder ausbleibt. Die morphologischen Untersuchungen, auf denen diese Anschauung basiert, betreffen komplizierte Verhältnisse im infizierten Organismus, wo das Ausbleiben der Phagocytose eventuell noch auf andere außerhalb der Bakterien liegende Ursachen zurückgeführt werden könnte. Mehr Ueberzeugungskraft haben daher Reagenzglasversuche, in denen wir die beteiligten Faktoren in der Hand haben und die es erlauben, den Zusammenhang zwischen Virulenz und Resistenz gegen Phagocytose näher zu untersuchen.

Noch im Jahre 1892 hat Massart gefunden, daß virulente Stämme von Milzbrand, Hühnercholera, Schweinerotlauf, Schweineseuche, *Pyocyaneus* und *Vibrio Metschnikoff* negative Chemotaxis gegenüber Leukocyten aufweisen und der Phagocytose weniger unterliegen, als avirulente Stämme derselben Art. Bezüglich der Staphylokokken zeigten Van de Velde sowie Kocher und Tavel, daß virulente Stämme der Phagocytose sowie der bakteriziden Wirkung der Phagocyten weniger zugänglich sind, als avirulente, und Pröscher meint, daß die Phagocytoseresistenz, als Maßstab der Staphylokokkenvirulenz gelten kann. Auch virulente Streptokokken entgehen der Phagocytose, und zwar nicht etwa auf Grund negativer Chemotaxis oder mangelnder Freßfähigkeit der Phagocyten, da gleichzeitig andere Bakterien lebhaft aufgenommen werden (Bordet, Marchand, Wallgreu, Bokenham, Hektoen, Ruediger, Löhlein, Levaditi und Inman). Marchand charakterisiert dies Verhalten der Streptokokken durch folgenden gut geprägten Ausspruch: „Un streptocoque est virulent, parce qu'il n'est pas phagocyté.“ Dasselbe bezieht sich auch auf die nächsten Verwandten der Streptokokken — die Pneumokokken; Huber hat auf die Phagocytoseresistenz von virulenten Stämmen hingewiesen, während avirulente mit Leichtigkeit zur Beute der Phagocyten werden, auch hat er gezeigt, daß einmalige Passage durch eine Maus den avirulenten Stämmen bereits die Resistenz verleihen kann. Auch Tschistovitsch sowie Rosenow kommen zu dem Schluß, daß Phagocytoseresistenz einen Maßstab für die Pneumokokkenvirulenz abgibt und daß im Laufe der Züchtung auf künstlichen Nährböden diese Immunität der Kokken zusammen mit der Virulenz abnimmt resp. schwindet. Rosenow fand ferner, daß virulente Pneumokokken aus Menschenserum kein Opsonin binden, während avirulente dies tun, sodann daß ein Auszug aus virulenten Kokken avirulente vor Phagocytose schützt, während der Auszug aus avirulenten dies nur in mäßigem Grade tut. Dasselbe beweisen für Typhus- und Paratyphusbakterien Neufeld und Hüne, für *Coli Beattie*, für *Pseudodiphtheriebacillen* Bergey, für Meningokokken Flexner, für Hühnercholera Silberberg und Zeliony. Hier wäre auch die interessante Beobachtung Löwensteins betreffs der Tuberkulose anzuführen: in einem Falle von langwieriger Blasen-tuberkulose verhielten sich die massenhaften Leukocyten des Blaseneiters ganz ablehnend zu den zahlreichen daneben ausgeschiedenen Tuberkelbacillen und zwar selbst nach Zusatz von Serum; dieselben Leukocyten zeigten deutliche Phagocytose sensibilisierter Kulturbacillen, wodurch sie ihre intakte Freßfähigkeit dokumentierten; wir sehen also in diesem Falle eine unzweideutige Anpassung der Bacillen an die Phagocyten, eine Tatsache, die vielleicht für den Verlauf derartiger Infektionen nicht ohne Belang ist.

Eine außerordentlich interessante diesbezügliche Untersuchungsreihe

haben kürzlich Levaditi und Roché im Metschnikoffschen Laboratorium über die afrikanische Rekurrens (Tick fever) ausgeführt. Impft man Ratten mit der Duttonschen Spirochäte, so entsteht bei denselben ein dem menschlichen Rekurrens sehr ähnliches Krankheitsbild, also ein erster Anfall mit großen Mengen von Spirochäten im Blut, der kritisch mit dem Verschwinden der Parasiten aus dem Blut endet, sodann nach einigen Tagen ein zweiter Anfall mit Wiederauftreten der verschwundenen Keime. Im Intervall befinden sich die Spirochäten in den inneren Organen und können durch die Verimpfung derselben auf weiße Mäuse nachgewiesen werden. Normales Rattenserum wirkt schwach spirillizid und schwach opsonisch — im ersten Anfall ändert sich dieses Verhalten nicht, erst 36—72 Stunden nach der Krise treten im Serum spezifische spirillizide und spirillotrope Substanzen in beträchtlicher Menge auf. Aber — und hier ist der springende Punkt — diese Wirkung tritt nur gegenüber den Spirochäten des ersten Anfalles zu Tage, diejenigen des zweiten Anfalles zeigen sich ihr gegenüber mehr oder weniger refraktär, auch absorbieren sie die spirilliziden Substanzen in bedeutend geringerem Maße, als die Spirochäten des zweiten Anfalles. Diese „Immunität“ der Spirochäten wird von ihnen sogar eine Zeitlang festgehalten; selbst einige Passagen durch Ratten oder Mäuse lassen sie bestehen. Auf Grund dieser schönen Experimente können wir uns gegenwärtig den rätselvollen und interessanten pathogenetischen Mechanismus des Rückfallfiebers erklären; unter Berufung auf meine vor vier Jahren ausgeführten Anschauungen nehmen Levaditi und Roché an, daß unter dem Einfluß der Infektion spezifische Schutzstoffe auftreten, daß unter ihrer Mitwirkung die Phagocyten den größten Teil der Spirochäten wegräumen, daß jedoch jene Individuen, die bereits teilweise sich angepaßt haben, in den inneren der Organen ihre Zuflucht finden (vielleicht kommt hier keine Spirillizidie zu stande ebenso wie in den Versuchen von Bail und Pettersson, Hoke und Hata) und von hier aus die Krankheit wieder anfachen, indem sie bereits genügend angepaßt wieder das Blut überschwemmen, trotzdem es bereits starke spirillenfeindliche Eigenschaften aufweist. Mit Recht glauben Levaditi und Roché, daß angesichts der vielen Analogien die das Rekurrens mit der anderen menschlichen Spirillose der Lues aufweist, auch bei dieser Krankheit wird der Mechanismus der Rezidive sich auf ähnliche Weise erklären lassen, d. h. durch Anpassung der Spirochäte an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus. Phagocytose im engeren Sinne, d. h. der physikalische Akt der Aufnahme von Bakterien seitens der Phagocyten ist aber für sich noch nicht ausschlaggebend für die Resistenz; es muß das aufgenommene Bakterium nicht nur gefressen, sondern auch verdaut werden, soll es als Feind unschädlich gemacht sein. Ob es nun auch eine Anpassung von virulenten Keimen an die Verdauungssäfte der Leukocyten (die Endokomplemente“ von Pettersson) und eine dadurch bedingte besondere Form von Phagocytoseresistenz gibt, müßten erst weitere Untersuchungen lehren.

Außer dieser Anpassung an die Säftbakterizidie sowie an die Phagocytose, die als Schutzanpassung zu betrachten ist, wär noch eine dritte Art von Anpassung — eine Angriffsanpassung — möglich, und zwar durch Steigerung der Toxizität resp. der Toxinproduktion seitens der Bakterienzelle. Es ist klar, daß Bakterien, die ihre Gifte schneller und in großer Menge produzieren, leichter die Schutzkräfte des Organismus lahmlegen und über ihn Oberhand gewinnen dürften, als andere, die in

dieser Richtung schlechter ausgestattet sind — natürlich unter sonst gleichen Umständen. Das wird ebenso auf lokale Gifte Anwendung finden, die durch Veränderung der Zirkulations- und Ernährungsverhältnisse Nekrose der Zellen und Koagulation der Säfte für das Bakterienwachstum ein günstiges Substrat schaffen, wie auch auf solche, die als Allgemeingifte Degenerationen der parenchymatösen Organe hervorrufen oder die für die Funktionstüchtigkeit des Organismus so bedeutungsvolle Tätigkeit des Nervensystems pathologisch beeinflussen. Vor allem aber kommt für die Virulenz der Bakterien die Produktion von Giften in Betracht, die direkterweise die Schutzarmee des Organismus, d. h. die Leukocyten lähmen, also die Produktion von sog. bakteriellen Leukotoxinen, die bei Staphylokokken (Van de Velde, Bail, Schattenfroh, Neisser und Wechsberg), Streptokokken (Ruediger), Gasphlegmonebacillen (Kamen), Rauschbrand und malignem Oedem (Eisenberg) gefunden wurden. Die Fähigkeit einer gesteigerten Giftproduktion im zu infizierenden Organismus wäre sehr gut in Einklang zu bringen mit einer ganzen Reihe in der Biologie wohlbekannter Tatsachen, nämlich der Anpassung der Fermente an das zu verdauende Substrat. Wenn nun auch die Natur der bakteriellen Gifte bisher noch unbekannt ist und wenn auch gewisse Unterschiede zwischen Toxinen und Fermenten bestehen, so glaube ich doch, daß die Annahme einer solchen Analogie (als Analogie) zulässig und in Form einer Hypothese der Wissenschaft nützlich sein könnte. Es läßt sich zwar nicht leugnen, daß das vorliegende Beweismaterial dafür, daß Steigerung der Giftproduktion als Anpassung an den infizierten Organismus die Virulenz der Bakterien steigert, bis jetzt noch beschränkt ist. Neisser und Wechsberg haben gefunden, daß manche der Leukocidinproduktion unfähige Staphylokokkenstämme durch Tierpassage zur Giftproduktion angeregt werden können, wobei natürlich auch ihre Virulenz steigt. Mir ist dasselbe bei drei ursprünglich schwachvirulenten Rauschbrand- und Oedemstämmen gelungen, die lange Zeit auf künstlichen Nährböden fortgezüchtet wurden; nach einigen Meer-schweinchenpassagen war erhöhte Virulenz und Leukotoxinproduktion zu konstatieren. Ruediger fand, daß nur virulente Streptokokkenstämme das von ihm beschriebene Leukotoxin produzieren. Bei intrapleurale Kaninchenpassagen von Staphylokokken haben Bail und Hoke festgestellt, daß parallel mit der Virulenz (Aggressivität) ihre allgemeine Giftigkeit stetig zunahm. Bezüglich der Streptokokken gibt Simon an, daß man bei ihnen Toxinproduktion durch Kultivieren auf Aleuronat-exsudat erzwingen kann, sofern das Exsudat auf ihr Wachstum hemmend einwirkt und auf diese Weise einen dem Tierkörper analogen Reiz abgibt. Auch im infizierten Organismus soll nach diesem Autor nur unter der Reizwirkung bakterienfeindlicher Agentien die Toxinproduktion zu stande kommen. Endlich hat Wechsberg in der Annahme, daß Giftproduktion eine Antwort auf bestimmte Reize des infizierten Organismus sei, Diphtheriebacillen in Bouillon mit Diphtherieserumzusatz gezüchtet und dabei ausgiebigere Giftproduktion erreicht, als in gewöhnlicher Bouillon. Für einen Zusammenhang zwischen Virulenz und Toxinproduktion sprechen die Befunde von Funck und Spronk, die durch Tierpassagen beim Diphtheriebacillus die Toxinproduktion gesteigert haben, sodann diejenigen von Martin, der dasselbe durch Peritonealpassagen in Kollodiumsäckchen erzielte. Wenn dagegen öfters gerade bei virulenten Diphtheriebacillen Mangel an Toxizität beobachtet wurde, so ist zu bedenken, daß nicht immer unsere Kulturmedien sich für

„tierische“ Bakterien gut eignen, daß also unter dysgenetischen Kulturbedingungen eventuell auch gesteigerte Toxinproduktion versagen kann. Virulent sind ja die Bakterien eigentlich nur im Tierkörper, in der Kultur aber nur, sofern sie sich an die Verhältnisse des tierischen Organismus anlehnt. So haben v. Dungern sowie Cartwright Wood auf Ascites- resp. Serumnährböden stärkere (bis 12mal) Giftproduktion beobachtet, als in gewöhnlicher Bouillon. Ebenso empfehlen Kotsch und Overbeck Serumbouillon als Kulturmedium für toxische Pestkulturen, Ciccarelli Fleischsaft, um gute Typhustoxine zu bekommen. Endlich wird mehrfach empfohlen, die zur Toxinproduktion bestimmten Stämme vorher durch Tierpassage virulent zu machen (Wassermann bei *Pyocyaneus*, Roux-Metchnikoff und Sallimbeni bei Cholera, Markl bei Pest). Inwiefern bei den exquisit toxischen Erkrankungen Differenzen der Giftproduktion in Betracht kommen, wäre erst eingehend zu untersuchen — wobei natürlich die variierende Giftempfindlichkeit der Versuchstiere vor allem berücksichtigt werden müßte.

Nun ist aber bekanntlich die Zahl der Krankheitsprozesse, in denen typische Ektotoxine zur Wirkung gelangen, recht gering, während bei der Mehrzahl wahrscheinlich Endotoxine als pathogenetische Faktoren in Betracht kommen. Es ergibt sich nun folgerichtig die Frage, ob auch bei diesen Bakterien ein Zusammenhang zwischen Virulenz und Toxizität (resp. Endotoxizität) angenommen werden darf, d. h. ob unabhängig von ihrer Vitalität und sonstigem Anpassungsgrad virulentere Bakterien auch endotoxischer sind. Trotz ihrer augenscheinlichen Wichtigkeit ist diese Frage bisher meines Wissens nicht einmal gestellt, geschweige denn gelöst worden. Nur bei Maurel finde ich die Angabe, daß virulente Tuberkelbacillen, wenn sie von Polynuklearen aufgenommen werden, dieselben abtöten, während die Aufnahme avirulenter Bacillen die Leukocyten unbehelligt läßt; Maurel glaubt folglich, daß der Leukocyt das empfindlichste Reagens für die Virulenz der Tuberkelbacillen abgibt. Nun verwendet aber Maurel bei seinen Versuchen nicht Tuberkulosestämmen verschiedener Virulenz, sondern erreicht die Virulenzherabsetzung durch Erhitzen, so daß eine direkte Abschwächung des Leukotoxins nicht auszuschließen ist. Auf die oben angeregte Frage, ob durch Anpassung an den infizierten Organismus auch die Endotoxizität der Bakterien gesteigert wird, glaube ich im Sinne einer Infektionstheorie, die demnächst ausführlich ausgeführt und begründet werden soll, bejahend beantworten zu müssen. Danach sind die Endotoxine nicht starr an die Bakterienzelle gebunden, wie die orthodoxe Endotoxinlehre bisher annahm, sondern werden von der Zelle ohne Schädigung an das Milieu abgegeben unter dem Einfluß verschiedener Lösungsmittel resp. vitaler Reize. Ich glaube nun, daß virulentere Bakterien nicht nur einen gesteigerten Gehalt bakterizider Rezeptoren, sondern auch eine größere Menge von Endotoxinen enthalten, resp. unter Reizwirkung seitens des Organismus solche in größerer Menge produzieren und abgeben (vital ohne Bakteriolyse), als weniger virulente. Dieser Endotoxinproduktion kommt im Infektionsmechanismus eine große Bedeutung zu, indem das diffundierende Endotoxin nicht nur lokal gewebsschädigend und allgemein neurotoxisch wirkt, sondern, wie demnächst gezeigt werden soll, auch leukotoxisch resp. negativ chemotaktisch. Diese im Organismus unter der Reizwirkung seiner Säfte hyperproduzierten und im Uebermaß abgeschiedenen „freien Rezeptoren“ (losgelöste Ektoplasmaanteile nach meiner Theorie) sind

identisch mit den Kruse-Bailschen Aggressinen, die nach diesen Autoren bekanntlich Träger der Bakterienvirulenz sind.

In Uebereinstimmung mit der experimentell-analytischen Richtung unserer Wissenschaft und mit ihrer berechtigten Tendenz, die Immunitätsvorgänge *in vitro* zu rekonstruieren, hat es seit langem nicht an Versuchen gefehlt, die verschiedenen hier beschriebenen Anpassungen an den infizierten Organismus nicht mehr im Organismus selbst, sondern im Reagenzglas zu erlangen. Indem man den Hauptreiz zu diesen Anpassungen in der Säftebakterizidie zu suchen geneigt war, trachtete man durch Züchtung von Bakterien in diesen Säften resp. in Nährböden mit Blut- oder Serumzusatz ihnen Serumfestigkeit resp. höhere Virulenz zu verleihen. Wenn derartige Versuche nicht immer von vollem Erfolg gekrönt wurden, so muß man bedenken, was die humorale Denkrichtung vergessen ließ, daß doch Blut oder Serum außerhalb des Organismus unmöglich den ganzen Organismus mit der Mannigfaltigkeit der Einflüsse, die drin auf die Bakterien einwirken, voll ersetzen kann und daß daher die Resultate der Anpassung *in vitro* nicht immer mit jenen wetteifern können, die im natürlichen Infektionsverlauf erlangt werden. In der Mehrzahl dieser Versuche gelingt es jedoch durch Züchtung in aktivem oder inaktiviertem, normalem oder spezifischem Serum eine Anpassung des betreffenden Stammes an die Agglutinine resp. Bakteriolyse zu erreichen und damit auch meist seine Virulenz für die betreffende Tierart zu erhöhen. Solche Versuche wurden mit Typhusbakterien (Haffkine, Trommsdorff, Walker, Shaw, Morello, Cohn), *B. coli* (Hamburger), Choleravibrien (Szekely, Ransom und Kitashima, Trommsdorff, Hamburger), *V. Metchnikoff* (Metchnikoff, Bordet, Sanarelli und Issaef), Ruhrbakterien (Marshall und Knox Mason), Milzbrandbacillen (Shaw, Sacharoff, Savtchenko, Danysz) und Pneumokokken (Mosny, Huber) mit Erfolg durchgeführt. Die erschöpfendste Analyse dieser Anpassung *in vitro* hat uns Cohn in seiner schönen Arbeit geliefert; er hat gezeigt, daß durch einige Passagen durch aktives oder inaktiviertes Kaninchenserum Typhusbakterien eine Resistenz gegen dieses Serum sowie gegen andere erlangen, daß diese Eigenschaft durch einige Generationen auf Agar vererbt wird, daß sie durch längeren Aufenthalt der Bakterien bei 37° C geschwächt wird, endlich daß sie nicht auf Sekretion irgendwelcher antibakteriolytischer Substanzen seitens der Bakterien zurückzuführen ist, sondern der Bakterienzelle selbst anhaftet. Weiter wäre noch zu erwähnen, daß es durch Züchtung in Serum Day gelungen ist, selbst Saprophyten, wie *B. prodigiosum*, *B. vulgare* und *B. fluorescens liquefaciens* eine gewisse Serumfestigkeit und eine, wenn auch beschränkte, Virulenz für unsere Versuchstiere anzuzüchten.

Endlich wäre noch über Versuche zu berichten, welche beweisen, daß auch Protozoen ähnlicher Anpassungen fähig sind wie die Bakterien: Rössle hat durch Injektion von Paramäcien bei Kaninchen ein für diese Protozoen toxisches Serum erlangt. Bringt man nun Paramäcien in eine Serumverdünnung 1:40, so wird die Mehrzahl unbeweglich und stirbt ab, einie wenige erholen sich nach einer vorübergehenden Lähmung. Werden nun diese letzteren nochmals in eine frische Serumlösung 1:40 gebracht, so bleiben sie nunmehr ganz unbehelligt und vertragen selbst eine Lösung 1:20, die für normale Paramäcien absolut tödlich ist. Das interessante Beispiel einer weitgehenden Anpassung von Protozoen bieten die jüngst veröffentlichten geistvollen und bahnbrechenden chemothera-

peutischen Trypanosomenstudien von Ehrlich, die, wenn sie auch nicht die Anpassung an den Organismus betreffen, doch so vielfache Analogien mit den uns beschäftigenden Fragen bieten und so frappante Resultate gezeitigt haben, daß es gerechtfertigt erscheint, sie hier wenigstens erwähnt zu haben.

Bisher haben wir uns fast ausschließlich mit Anpassungsvorgängen beschäftigt, die allmählich im Verlauf der Infektion vor sich gehen, eventuell mit Veränderungen, die durch successive Anpassungen bei aufeinanderfolgenden Infektionen gefestigt werden. Die Untersuchungen letzter Jahre machen uns jedoch mit einer Reihe von Anpassungsvorgängen bekannt, die sehr schnell im Verlauf von Stunden nach Einführung der Bakterien in den Organismus zu stande kommen und die für den Infektionsmechanismus nicht minder wichtig sind als jene oben beschriebenen. Diese Veränderungen sind um so interessanter, als ihnen zum Teil morphologische Veränderungen der Bakterien Gefolge leisten, die schon auf den ersten Blick es erlauben, die angepaßten „tierischen“ Bakterien von den unangepaßten Kulturkeimen zu unterscheiden. Es sind schon mehr als 20 Jahre verflossen, seit Metchnikoff zum ersten Male die Existenz einer Kapsel beim Milzbrandbacillus im Tierkörper feststellen; sodann haben Serafini, John, Klett und viele Andere sich mit der morphologischen und diagnostischen Seite der Frage eingehend beschäftigt. Erst vor 10 Jahren hat Savtchenko die Bedeutung der Kapselbildung für die Milzbrandinfektion gehörig gewürdigt; dank den Untersuchungen von ihm, Deutsch, Danysz, Heim, Löhlein, Gruber und Futaki, Bail, Stiennon, Neumann, Preisz wurde diese biologische Seite bis zu einem gewissen Grade geklärt, und diese Resultate wollen wir jetzt in ihren Grundzügen kennen lernen. In den Tierkörper eingeführte Milzbrandbacillen umgeben sich nach einer je nach den Umständen variierenden Zeit mit einer dicken Schleimkapsel, die besondere färberische Eigenschaften zeigt (Metachromasie). Im Gegensatz zu Kulturbakterien sind derartige eingekapselte Bakterien der bakteriziden Serumwirkung sowie der Phagocytose unzugänglich, denen jene leicht anheimfallen. Vermehrungsfähig sind im tierischen Organismus nur diese tierischen Bacillen — sie sind also nur im eigentlichen Sinne virulent. Die Virulenz einer Milzbrandkultur wird durch die Menge der zur Einkapselung fähigen Individuen bestimmt und durch die Zeit, die unter den angegebenen Umständen zu dieser Anpassung nötig ist. Unter sonst gleichen Bedingungen ist also die gleiche Menge eingekapselter tierischer Bacillen virulenter als dieselbe Menge Kulturbacillen. In der Kultur weisen die Bacillen die Spur einer Hülle auf, die durch besondere Fixierungsmethoden dargestellt werden kann (Boni). In Serulkturen weisen die Bacillen typische Kapseln auf, auch sind sie virulenter als normale Kulturkeime. Die Fähigkeit der Kapselbildung steht in engem Zusammenhang mit dem Virulenzgrad der Kultur; bei abgeschwächten ist sie verzögert, bei avirulenten kommt sie gar nicht zu stande. Der Extrakt der Kapselsubstanz schützt normale Bakterien vor der bakteriziden Wirkung des Kaninchen- und Pferdeserums (Prieis). Wie ist nun die Kapselbildung aufzufassen? Die einfachste und naheliegendste Erklärung wäre scheinbar wohl die, daß die Kapselbildung eine zielstrebige Schutzreaktion der Bacillen gegen den Organismus darstellt. Für diese Auffassung spräche wohl die Feststellung von Danysz, daß an die antiseptische Wirkung von Arsenik in vitro angepaßte Milzbrandbacillen sich ebenfalls mit einer dicken Schleimhülle umgeben.

Gegen diese teleologische Erklärungsweise spricht jedoch die Tatsache, daß es auch in bakterizid inaktiven (Meerschweinchenserum) oder inaktivierten Seris (Kaninchen- und Pferdeseris) zur Kapselbildung kommt. Man muß folglich annehmen, daß der Tierkörper nur eine Substanz liefert, die in seinen Säften enthalten ist und die als Reizmittel oder als Material für die Kapselbildung unentbehrlich ist (Stiennon). Im Serum außerhalb des Organismus wird diese Substanz nach einiger Zeit erschöpft, da die Kapseln in den Serumkulturen nach 48 Stunden verschwinden; im Organismus wird sie augenscheinlich durch ständige Regeneration in genügender Menge den ins Unermeßliche sich mehrenden Bacillen geliefert.

Dieser ganze an Milzbrandbacillen beobachtete Erscheinungszyklus ist durchaus nicht alleinstehend; dieselben Tatsachen finden sich Zug für Zug bei den Streptokokken, wie die Untersuchungen von Bordet, Marchand, Wallgren und Bukojemski zeigen, und bei der Pestinfektion nach den Befunden von Löhlein. Wir wissen sodann, daß Kapselbakterien, der *Botryomyces*, der *Leuconostoc hominis*, *Diplococcus mucosus*, *Streptococcus mucosus*, Hühnercholera, Aktinomyeten (?), Pneumokokken, der *Tetragenus* sowie verschiedene Blastomyceten im infizierten Tierkörper Kapseln aufweisen, und es erscheint wahrscheinlich, daß eine eingehendere Untersuchung einen ähnlichen Anpassungsmechanismus ergeben wird, wie in obigen Fällen. Vom *Oidium*-Pilz ist es bekannt, daß er, im Serum immunisierter Tiere gezüchtet, eine dicke Kapsel produziert (Charrin und Roger, Marco del Pont).

Außer diesen Bakterien, die ihre Anpassung sichtbar werden lassen, gibt es noch andere, bei denen man zwar funktionelle Anpassungsvorgänge feststellen kann, die morphologischen Veränderungen jedoch entweder nicht auftreten oder zu gering sind, um mit den oben beschriebenen verglichen werden zu können. Coli- und Typhusbakterien aus dem Peritonealexsudat des Meerschweinchens unterscheiden sich nach Radzievsky sowie Bail und Rubritius von Kulturbakterien durch größere Dimensionen, und ich konnte feststellen, daß man durch Giemsa-Färbung solcher Präparate die Bakterien sich in ein blaufarbiges Endoplasma und einen rosafarbenen Ektoplasmasaum differenzieren, welcher letztere das Aussehen einer Kapsel um einen dunklen Kern bietet. Solche Bakterien, die kaum 10–20 Stunden im Tierkörper verweilt haben, zeigen neben herabgesetzter Agglutinabilität eine starke Resistenz gegen die Bakterizidie normalen Kaninchen- oder Meerschweinchensersums oder spezifischen Kaninchen- oder Pferdesersums, sind dagegen der Phagocytose normal zugänglich. Diese schnell erworbene Resistenz ist natürlich nur vorübergehend — ähnlich wie bereits die erste Agarkultur aus einer Milzbrandmilz nackt ist und normale Empfindlichkeit zeigt, ebenso verlieren auch diese tierischen Bakterien sehr schnell ihre besonderen Eigenschaften, sofern sie nicht wieder in ein neues Tier gelangen. Ähnlich wie Typhusbakterien verhalten sich Rhinosklerom- und Friedländerbakterien nach einmaligem kurzen Aufenthalt im Tierkörper (Erben, Rubritius). Weiter hat Kisskalt beobachtet, daß Staphylokokken im infizierten Organismus größer und dicker aussehen, als in der Kultur. Es ist naheliegend, in dieser schnell auftretenden und leicht sich verlierenden Veränderung den Grundstein zu jener oben beschriebenen allmählich erworbenen, aber besser festgehaltenen Anpassung zu vermuten.

Bisher haben wir uns nur mit einer Anpassung befaßt, die den Organismus als Ganzes genommen betrifft; außerdem kann man sich aber noch vorstellen, daß die Bakterien unter gewissen besonderen Umständen sich auch an die Abwehrkräfte eines bestimmten Gewebes oder Organs anpassen können, sofern ihnen öfter Gelegenheit geboten wird, gerade in diesem Organ zu leben und ihre pathogenetischen Funktionen zu entwickeln. Eine Reihe von Beobachtungen bestätigt diese Anschauung; durch Inhalation von Pestkulturen hat Martini bei Ratten Pestpneumonie hervorgerufen, den Saft dieser Lungen hat er wieder andere Ratten inhalieren lassen und so fort; nach einer Reihe derartiger Lungenpassagen zeigte die Kultur nicht nur eine hochgradig gesteigerte Allgemeinvirulenz, sondern auch die Fähigkeit, selbst bei subkutaner oder intraperitonealer Einverleibung immer wieder Pestpneumonie hervorzurufen. Ebenso verhält sich nach Polverini eine durch Makakenlungen passierte Pestkultur. Bezüglich des Streptococcus fand Forssner, daß er durch Züchtung auf Nierenbrei zwar seine Allgemeinvirulenz herabsetzt, dagegen die Fähigkeit erwirbt, Nierenmetastasen hervorzurufen und mit dem Harn ausgeschieden zu werden, eine Fähigkeit, die dem virulenteren Ausgangsstamm abging. Kruse und Kemp (zitiert von Pane und Lotti) fanden, daß ein Stamm aus der Fleischvergiftungsgruppe sich auf stomachalem Wege infektiös zeigte, während sukubtane oder intraperitoneale Einverleibung wenig wirksam war; nach einer Reihe von Peritonealpassagen hat er nun eine große Virulenz für diesen Infektionsweg erlangt, dagegen die Infektionsfähigkeit durch den Verdauungskanal eingebüßt. Weiter ist es wahrscheinlich, daß diese Organanpassung eine bedeutende Rolle in der Pathogenese der Lyssa spielt; wir wissen, daß das Virus fixe, subdural eingeführt, schneller und sicherer die Versuchstiere tötet als das Straßenvirus. Dieser fundamentale Unterschied beider Virusarten wird von gewissen Autoren auf eine spezifische Anpassung des Virusfixe an den Kaninchenorganismus zurückgeführt, in dem er seit Hunderten von Generationen ohne Unterbrechung zirkuliert, während das Straßenvirus ständig in anderen Organismen sich bewegt. Andere sehen das Wesen dieses Unterschieds in der Toxinproduktion, die beim fixen Virus ausgesprochener sein soll, als beim Straßenvirus. Eine abweichende Auffassung vertritt Krajschkin; seiner Ansicht nach ist wohl das Virus fixe infektiöser und wirkt sicherer, wenn es subdural eingeführt wird, dagegen zeigt es sich bei subkutaner Infektion unzuverlässig und wenig wirksam, während bei dieser Infektionsweise das Straßenvirus eine ausgesprochene Virulenz zeigt. Er glaubt also, daß das von Gehirn zu Gehirn verimpfte Straßenvirus die Fähigkeit eingebüßt hat, sich in der Subcutis zu vermehren, mit der er nicht mehr in Berührung kommt, dagegen ist es in hohem Grade befähigt, im Gehirn sich schrankenlos zu vermehren, das sein ständiges Kultursubstrat bildet. Vor 1½ Jahren hat Nitsch ähnliche Experimente bezüglich der Differenzen beider Virusarten ausgeführt; gestützt auf diese Versuche, sowie auf die durch Ferran, Bareggi, Wyssokowitsch, Helman, Marx und durch einen eigenen Selbstversuch festgestellte Unschädlichkeit des Virus fixe bei subkutaner Injektion für den Menschen behauptet auch Nitsch, daß das Virus fixe durch den kontinuierlichen Aufenthalt im Gehirn seine Abwehrfähigkeit gegenüber subkutanem Gewebe verloren (das, was Nitsch die „passiven Eigenschaften“ nennt), dagegen seine Aggressivität gegenüber dem Gehirn (die „aktiven Eigenschaften“ von Nitsch) bis zum höchsten Grad

potenziert hat. Mit anderen Worten ausgedrückt — besäße das Virus fixe eine durch Anpassung höchstgesteigerte Gehirnvirulenz — eine schwache Subkutanvirulenz. Ganz ähnliche Anschauungen entwickelt gleichzeitig Marx. Es ist hier nicht der Ort, auf die interessanten und wichtigen praktischen Schlußfolgerungen einzugehen, die Nitsch daraus für die Technik der Wutschutzimpfungen zieht und die auf eine bedeutende Abkürzung, Vereinfachung und Steigerung der Wirksamkeit der Impfungen abzielen. Endlich gehört hierher die Beobachtung von Löffler, daß es nicht gelingt, auf subkutanem Wege Mäuse gegen intrastomachale Infektion mit Mäusetyphus zu immunisieren, wohl aber gegen subkutane Infektion; es beweist dies meiner Ansicht nach, daß der Mäusetyphus für Mäuse eine spezifische Magendarmvirulenz besitzt, der die humorale Immunität, die bei subkutaner Behandlung entsteht, nicht gewachsen ist und die ein ganz besonderes Korrelat, eine lokale Magendarmimmunität erheischt, diese aber wird nur durch perorale Immunisierung erreicht. Im allgemeinen glaube ich, daß die bisher wenig beachtete Organvirulenz sowie ihr Korrelat, die lokale Gewebsimmunität, noch eine große Rolle in der Pathologie zu spielen berufen sind.

Nachdem wir auf diese Weise die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus von all ihren Seiten kennen gelernt haben, müssen wir nun an die Konsequenzen herantreten, die sich daraus für die Pathologie und Therapie, für ärztliches Denken und Tun ergeben. Vor allem also für das Problem der Infektion: wir wissen heute durch Erfahrungen auf dem ganzen Gebiete der Infektionskrankheiten, daß jeder Infektionskeim direkt oder indirekt aus einem anderen infizierten Organismus kommt sowie daß die Existenzmöglichkeit pathogener Keime in der Außenwelt (Sporenbildner etwa ausgenommen) beschränkt ist. Es ergibt sich nun von selbst, daß ein soeben aus seinem Opfer kommender Infektionserreger einen hohen Anpassungsgrad aufweist und daher große Aussicht hat, eine neuerliche Infektion zu erregen, sofern er auch in kleiner Menge in den neuen Organismus hineingelangt. Hat aber das Virus eine Zeitlang in der Außenwelt verweilt, so wird seine Infektionstüchtigkeit vom Grade abhängen, in dem er seine früher erworbene Anpassung noch hat beibehalten können, sodann aber von der Anzahl der Individuen, die in den Organismus eindringen, denn unter einer größeren Anzahl finden sich leichter einige, die noch genügend angepaßt oder dank dem Artgedächtnis einer schnellen Anpassung fähig sind. Natürlich ist auch der Zustand des zu infizierenden Organismus in dieser Gleichung eine nicht zu vernachlässigende Größe; über einen von Natur aus wenig widerstandsfähigen oder momentan geschwächten Organismus wird auch ein weniger angepaßter Keim den Sieg davontragen, einem wehrfähigen und funktionstüchtigen gegenüber wird wohl nur ein sehr virulenter aufkommen können. Wir werden jetzt wohl begreifen, warum im Verlaufe großer Epidemien die Intensität, Infektiosität und Letalität der Krankheit bis zu einem gewissen Punkt meist ansteigt, um dann langsam oder rapid abzunehmen. Solche Epidemien sind ja nichts anderes als natürliche Passagen innerhalb einer Species, die dem betreffenden Keim Gelegenheit bieten zu einer stetigen Vervollkommnung seiner Infektionsfähigkeit. Das Erlöschen einer Epidemie könnte dann erklärt werden einerseits durch Erschöpfung des Substrats, d. h. durch Mangel an Individuen mit einem bestimmten Empfänglichkeitsgrad für die gegebene Virulenz des Erregers, andererseits vielleicht

auch durch eine Veränderung im Komplex der Ursachen, die die Empfänglichkeit des Organismus für die betreffende Krankheit bedingen.

Wenn wir jetzt unser Augenmerk auf die Infektion des Individuums wenden, so ergibt sich aus dem früher Gesagten, daß die Säftebakterizidie im Abwehrmechanismus nur eine bescheidene Rolle spielt. Die Versuche von Bail und Pettersson, Hoke, Hata haben uns gelehrt, daß die Gegenwart von Organen die Säftebakterizidie für eine große Anzahl von Keimen aufhebt, es bleibt also nur das Zirkulationssystem, sowie die geschlossenen Körperhöhlen als Bereich der humoralen Wirkungen. Nun lehrt uns aber die tägliche Erfahrung, daß diese Wege wohl am seltensten den Infektionserregern als Eintrittspforten dienen, daß in den meisten Fällen die Cutis resp. die inneren Organe es sind, in die Bakterien hineingelangen. Hier sind aber die bakteriziden Substanzen in verdünnter Lösung enthalten, sodann aber kommen sie überhaupt nicht zur Wirkung. So erklärt es sich z. B., daß Typhusbakterien in den menschlichen Körper eindringen können, der über stark bakterizide Eigenschaften ihnen gegenüber verfügt; indem sie sich im Darminhalt, an der Darmschleimhaut, in den Gallenwegen und im lymphatischen Apparat vermehren, können sie, ohne Schaden zu leiden, allmählich sich an den Organismus anpassen. Inwieweit die Dauer der sogenannten Inkubationsperiode bei Infektionskrankheiten im allgemeinen und insbesondere beim Typhus von der Anpassung der Erreger und der dazu nötigen Zeit bestimmt wird, wäre wohl einer eingehenden Untersuchung wert. Mit der Zeit gelangen sie auch ins Blut — in beschränkter Anzahl allerdings —, die schwächeren gehen darin wohl zu Grunde, die besser angepaßten vermögen zwar kaum darin sich zu vermehren, doch gelangen sie mit der Zirkulation in verschiedene innere Organe, wo sie metastatisch neue Infektionsherde schaffen. Mit dem Verlauf der Infektion wächst die Anpassung und entsprechend sinken die Chancen für die Serumbakterizidie; wenn wir dennoch beim Typhus sehen, daß die in den ersten 2 Wochen konstant im Blute zirkulierenden Bakterien in der 3. und 4. Woche viel seltener darin vorkommen, um endlich ganz zu verschwinden, so müssen eben wohl noch andere Faktoren hier ins Spiel treten — vor allem wohl phagocytäre Vorgänge. Wir haben oben in den Versuchen von Bail und Rubritius gesehen, daß serumfeste Typhusbakterien noch von Phagocyten gefressen werden können. Diese Phagocytose wird noch durch die Opsonine des normalen Serums resp. die während der Infektion neugebildeten spezifischen bakteriotropen Substanzen begünstigt. Bakteriolytisch nicht beeinflussbare Bakterien können noch immer der Phagocytose unter Mitwirkung der Opsonine anheimfallen, und sofern sie sich an die letzteren angepaßt haben, können sie im Endstadium des Krankheitsprozesses durch die neugebildeten wirksameren bakteriotropen Substanzen der Phagocytose zugeführt werden. Inwiefern noch außerdem antitoxische Prozesse sowie lokale Gewebsimmunität an der Heilung der Infektionskrankheiten beteiligt sind, soll hier, als außerhalb unseres Themas liegend, nicht näher besprochen werden. Andererseits kann aber die Anpassung der Bakterien einen derartigen Grad erreichen resp. die Resistenz des Organismus und seine Reaktionstüchtigkeit dagegen so unzulänglich sein, daß die Resultante sich zu Ungunsten des Organismus verschiebt, die Bakterien den Körper überfluten, seine Abwehrmittel paralisieren und einen letalen Ausgang herbeiführen. So kommt also die Anpassung der Bakterien — gegenwärtig oder bereits früher erworben — in der Infektionsgleichung neben

die Resistenz des Organismus als gleichwertiger Faktor zu stehen — beide zusammen bestimmen die Richtung und den Verlauf des Krankheitsprozesses, entscheiden über die Art seines Ausganges — über Leben oder Tod des infizierten Organismus.

Aber diese zwei Lösungen — obzwar zweifellos die häufigsten — sind doch nicht die einzig möglichen; im Kampfe des Organismus gegen den unsichtbaren Feind muß immer eine Partei den Sieg davontragen, die andere unterliegen. Wie wir oben an zahlreichen Beispielen sehen konnten, kommt es auch vor, daß beide Kämpfer am Leben bleiben, und es kommt zu einer Art von bewaffnetem Waffenstillstand, der wochen-, monate-, selbst jahrelang dauern kann. Die Krankheit hört auf, der Organismus gleicht die durch sie geschaffenen Störungen aus, und dennoch lebt in ihm der Feind fort, da er sich an seine Abwehrkräfte angepaßt hat, unschädlich und selber seinerseits keinen Schaden leidend, doch durchaus nicht bedeutungslos für den Organismus selbst und für seine Umgebung. Es versteht sich ja von selbst, daß ein derartiger Gleichgewichtszustand zwischen zwei komplizierten Lebewesen höchst labiler Natur sein muß; es kann mit der Zeit die vom Organismus erworbene Immunität schwinden, schädigende Einflüsse können sie bis zum Niveau normaler Empfänglichkeit oder auch darunter herabdrücken, dann erwacht natürlich der schlummernde Feind, es entsteht ein Rezidiv oder irgend ein posttyphöser oder postpneumonischer Prozeß, der oft durch eine lange Periode von Wohlbefinden vom eigentlichen Krankheitsablauf getrennt ist. Oder aber die Bakterien werden langsam abgeschwächt — abgekapselt werden sie dem Einfluß der Körpersäfte entzogen, ihre Anpassung schwindet, und sie erliegen allmählich — die typhöse Bakteriurie oder die bakterienhaltigen Stühle sistieren — der Prozeß ist endgültig abgeschlossen. Ein überzeugendes Beispiel der erstgenannten Verlaufsmöglichkeit bietet eine Beobachtung von Levy und Kayser; in einer Geisteskranken wird 2 Jahre nach abgelaufenem Typhus eine Dauerausscheiderin erkannt; ohne irgendwelche Krankheits-symptome dauert dieser Zustand noch 1 Jahr lang an, sodann plötzlich eine 11tägige atypische fieberhafte Erkrankung; die Sektion weist eine Typhusseptikämie nach¹⁾. Die Beobachtungen der letzten Jahre weisen darauf hin, daß zu Bacillenträgern nicht nur Leute werden können, die einen typischen, schweren Typhus durchgemacht haben, sondern auch solche, deren Erkrankung leicht war und nur ein paar Tage in Anspruch nahm, endlich auch solche, die überhaupt keine klinisch wahrnehmbaren Krankheitssymptome geboten und nur in der Umgebung Typhuskranker gewelt haben. Man muß in solchen Fällen annehmen, daß entweder der in den Organismus hineingelangte Keim einen schwachen Virulenzgrad besaß, so daß die Reaktion des Organismus nicht die Schwelle sichtbarer Erkrankung erreichen konnte — oder aber, daß ein normal virulenter Keim auf einen von Natur besonders widerstandsfähigen Organismus traf, der zu einer besonders schnellen und ergiebigen Abwehrreaktion befähigt war, so daß der „angesteckte“ Organismus doch nicht in klinischem Sinne „infiziert“ wurde. Lokale Virulenz und lokale Gewebssimmunität kommen auch bei dieser Frage zweifellos in erster Linie in Betracht.

1) Ein ähnliches Beispiel einer Autoreinfektion mit Typhus von der Gallenblase aus beschreibt in neuester Zeit Grimme (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 37). (Anm. während der Korr.)

Damit berühren wir nun eine Frage von außerordentlicher Bedeutung für die Pathologie, die in letzter Zeit viel von sich hat sprechen lassen — die Frage latenter Infektion und latenten Mikrobismus. Ich meine damit natürlich nicht die banalen Saprophyten, die man in verschwindend kleiner Anzahl in den inneren Organen normaler Tiere findet; durch den Verdauungstraktus in den Organismus hineingelangt, scheinen sie hier schnell abgetötet zu werden und dokumentieren ihre Bedeutungslosigkeit für die Pathologie dadurch, daß eben unter ihnen nur in seltensten Fällen wahre Krankheitserreger gefunden werden. Eine ganz eminente Bedeutung für die Pathologie und Epidemiologie haben dagegen pathogene Keime, sofern sie in latentem Zustand und ohne Krankheitserscheinungen zu provozieren, auf Schleimhäuten oder, was noch wichtiger ist, in inneren Organen vegetieren. Allbekannt ist wohl das Vorkommen pathogener Diphtheriebacillen, Strepto- und Pneumokokken in der Mund- und Rachenhöhle, von Meningokokken in der Nasenrachenhöhle gesunder Individuen. Da sie normalerweise beim Menschen dort nicht vorkommen und da sie auch bei Rekonvaleszenten nach einiger Zeit von dort verschwinden, müssen wir wohl annehmen, daß ihre Persistenz auf jenen Schleimhäuten eine gewisse Anpassung an die physikalisch-chemischen Bedingungen, an die vitale Konkurrenz der normalen Flora dieser Schleimhäute, endlich an die Phagocytose, die dort in beschränktem Maße vor sich geht, zur Bedingung hat. Bedeutend wichtiger ist natürlich — wenigstens für den Träger selbst — die Existenz von pathogenen Keimen in den inneren Organen entweder in minimalen Herden, die nur der pathologisch-anatomischen Diagnose zugänglich sind, aber keine klinischen Krankheitssymptome zeitigen oder aber in völlig normalem Gewebe ohne Spur selbst noch so kleiner Veränderungen. In normalen Lungen hat man virulente Pneumo- und Streptokokken gefunden, ebenso in Mesenterialdrüsen normaler Tiere. Es ist bekannt, daß Behring die alte Baumgartensche Theorie von der latenten hereditären Tuberkulose aufnahm und unter großem Aufsehen der medizinischen Welt verkündet hat, die Mehrzahl der menschlichen Tuberkulosen stamme aus dem Fötalleben oder aus den ersten Lebenswochen, ohne jedoch zu dieser Zeit sich durch irgendwelche Symptome zu verraten; erst im späteren Leben erwecken allgemeine Schädlichkeiten oder tuberkulöse Suprainfektionen den schlummernden Keim zu neuer Tätigkeit, die sich erst als klinische Tuberkulose manifestiert. Nun zeigen zwar die neueren Statistiken von Naegeli und von Burkhardt — die auf exaktesten makro- und mikroskopischen Untersuchungen von zusammen ca. 2000 Fällen basieren —, daß, sofern es sich selbst um minimale anatomische Veränderungen handelt, der Satz v. Behrings nicht zutrifft, da die Häufigkeit anatomischer Tuberkulose mit dem Alter, d. h. mit der gebotenen Infektionsmöglichkeit proportional zunimmt. Aber die Untersuchungen von Loomis, Pizzini, Spengler, Walsham, Mac Fadyen und Mac Conkey und vor allem die ausgezeichneten Arbeiten von Harbitz, Weichselbaum und Bartel und Rabinowitsch beweisen überzeugend, daß Tuberkelbacillen speziell bei Kindern in Lymphdrüsen existieren können, ohne eine Spur von anatomischen Veränderungen hervorzurufen. In Uebereinstimmung damit zeigen die Tierexperimente von Dürck, Perez, Kälble, Manfredi und Frisco, Vallée, Lignières, Thomassen, daß die Anwesenheit virulenter Tuberkelbacillen in den Lymphdrüsen verschiedener Versuchstiere sich durch keinerlei anatomische Läsionen zu verraten braucht. Es

braucht wohl kaum hervorgehoben zu werden, welche Bedeutung für die Pathogenese der Tuberkulose diese Feststellung des latenten tuberkulösen Mikrobismus besitzt. Ähnlich scheint sich übrigens die Rotzinfektion zu verhalten, die auch sonst so zahlreiche Analogieen mit der Tuberkulose aufweist; Bonome berichtet, daß es durch Verfütterung von Rotzbakterien an Pferde gelingt, solchen latenten Rotz hervorzurufen, der jedoch für andere Pferde sich als infektiös erweisen kann. Tarozzi behauptet, daß der Tetanusbacillus $3\frac{1}{2}$ Monate lang in den inneren Organen von Versuchstieren ein latentes Dasein führen kann, um unter gegebenen Umständen die Krankheit hervorzurufen¹⁾. Epidemiologisch ungemein wichtig und für die Pathologie sehr interessant ist die von Bruce festgestellte Beobachtung, daß unter 80 vollkommen gesunden Negern 23, d. i. 29 Proz., in ihrem Blute das *Trypanosoma gambiense* beherbergten, daß also unter Umständen dieser unheilvolle Gast, ohne Schaden zu stiften, im Menschen weilen kann. Solche Menschen sind natürlich ebenso wie trypanosomenhaltiges Vieh und Wild eine ständige Infektionsquelle für Zecken und indirekterweise auch für ihre Mitmenschen, außerdem kann natürlich jeden Augenblick das scheinbar friedliche Verhältnis in einen offenen Kampf sich verwandeln und so zur tödlichen Krankheit führen. Endlich müssen wir auf Grund verschiedener Tatsachen auch beim unbekannten Wuterreger die Möglichkeit eines latenten Mikrobismus annehmen, der keinerlei Symptome zeitigt. Es kommt zuweilen vor, daß bei Menschen, die durch tolle Tiere gebissen wurden, die Krankheit durch lange Zeit nicht auftritt, bis irgend ein Trauma an der Bißstelle oder wo anders oder eine allgemeine Schädlichkeit, etwa ein psychischer Shock, ganz plötzlich und unvermittelt die Symptome zum Vorschein bringt. Experimentell ist die Möglichkeit latenter Wutinfektion von Marie bewiesen worden: Er hat Meerschweinchen abgeschwächtes Virus subdural eingespritzt, und 2 Monate lang blieben die Tiere frei von Erkrankung; als er ihnen sodann Gehirnextrakt ebenfalls ins Gehirn brachte, brach die Wut innerhalb 48 Stunden aus. In einem anderen Versuche injizierte er einem Kaninchen subkutan Virus fixe, auf der anderen Seite dagegen eine Dosis Wutserum, die diese Infektionsdosis glatt neutralisierte; 15 Tage lang wurde nichts Abnormes beobachtet; als er nun darauf dem Tiere virulente Emulsion subdural einspritzte, trat in einigen Stunden die Wut auf — natürlich nicht als Folge der zweiten Injektion, denn dazu war die Zeit zu kurz, sondern als Wirkung des ersten Virus, das trotz der Serumwirkung sich am Leben erhalten und bis zum Gehirn vorgedrungen war. In allen diesen Fällen von latentem Mikrobismus müssen wir wiederum eine Anpassung des Erregers an den Organismus annehmen — diesmal unter solchen Bedingungen, daß Immunität des Erregers und Resistenz des Organismus sich die Wage halten, so jedoch, daß das scheinbare Gleichgewicht labil ist und jeden Augenblick zu gunsten des einen oder anderen beteiligten Faktors sich ändern kann. Ob man berechtigt ist, einen derartigen Zustand Symbiose zu nennen, wie Karwacki in seinem interessanten Aufsatz es tut, möchte ich bezweifeln: im biologisch geläufigen Sinne bedeutet doch Symbiose das Zusammenleben zweier Arten, das beiden zum Vorteil gereicht, was doch für unseren Fall keineswegs zutrifft.

1) In neuester Zeit berichten Hübener und Kutscher über Befunde von Meningokokken bei Gesunden außerhalb infizierter Bezirke. (D. militärärztl. Zeitschr. 1907.) (Anm. während der Korr.)

Endlich bleibt uns noch die Frage zu erörtern, welche Konsequenzen die praktische Medizin und speziell die Serotherapie aus den hier besprochenen Tatsachen und Anschauungen für sich zu ziehen hätte. Zunächst ist es nun klar, daß die Bakterien, die wir im Laboratorium auf künstlichen Nährböden züchten, sich ganz anders verhalten als diejenigen, die uns eigentlich interessieren, die Bakterien im infizierten Organismus im Vollbesitz krankmachender Funktionen. Auf künstlichen Nährböden gezüchtet, bei genügender Nahrung zwar aber ohne die zur Erhöhung der Funktionstüchtigkeit nötigen Reize der Abwehrkräfte des Organismus büßen unsere Kulturbakterien ihre wahre Natur ein, sie verlieren die durch Anpassung gewonnenen und erhaltenen wichtigen Eigenschaften, die sie nötig haben, um sich im infizierten Organismus zu halten und zu vermehren. Auf Versuche, die mit ihnen angestellt werden, sich darüber eine Vorstellung machen zu wollen, was im infizierten Organismus geschieht, käme auf dasselbe hinaus, wie wenn Jemand den stolzen König der Wüste kennen lernen wollte hinter dem eisernen Gitter einer umziehenden Menagerie oder selbst eines Tiergartens. Die Mehrzahl der Versuche über Immunität und Serotherapie ist eben mit solchen entarteten Laboratoriumskeimen angestellt worden — kein Wunder, daß ihre Resultate nur mit großen Einschränkungen oder auch gar nicht sich auf die Wirkung der Sera im infizierten Organismus übertragen lassen, wo sie den von Bail treffend als „tierisch“ bezeichneten Bakterien gegenüberstehen. Man müßte also im Sinne dieser Anschauungen alle Experimente speziell mit bakteriziden Seris wiederholen — aber diesmal mit tierischen Bakterien — man müßte die Sera einer Feuerprobe unterwerfen, die erst über ihre Verwendungszulässigkeit entscheiden sollte. Andererseits aber kann ich unmöglich die sehr pessimistisch angehauchten Anschauungen von Karwacki teilen, der bakteriziden Seris überhaupt jeden Heilwert abspricht. Man darf eben nicht vergessen, daß jede Anpassung an den infizierten Organismus relativ und graduell ist; während der Infektion selbst bildet der Organismus zwar spezifische Schutzstoffe, aber meist erst im Endstadium der Krankheit und in relativ geringer Menge, erst in der Rekonvaleszenz erreichen sie eine größere Konzentration. Da nun der Grad der Anpassung im Verlauf der Infektion sich nach der Intensität des ihn provozierenden Reizes richtet, so können die Bakterien sich gegen die normalen Abwehrkräfte immunisieren, dagegen kann diese Resistenz sich als unzulänglich erweisen gegenüber spezifischem Immunsorum, das bedeutend mehr Schutzstoffe enthalten kann, als selbst wirksamstes Rekonvaleszenten-serum. Man könnte also mittels eines solchen Serums selbst einen gut angepaßten Keim beeinflussen, speziell wenn man zur Immunisierung nicht entartete „tierische“ Bacillen verwendet. Wir haben sogar Anhaltspunkte dafür, daß in Fällen, wo normales Serum den tierischen Bacillen nicht beikommt, spezifisches Serum noch zu Ziele gelangen kann; normales Serum ist unzureichend, um virulente Pneumokokken der Phagocytose zugänglich zu machen (opsonisieren), dagegen gelingt dies mit Hilfe spezifischen Serums. Ebenso sind eingekapselte Pestbakterien der Opsoninwirkung normalen Serums unzugänglich, wohl dagegen dem Einfluß spezifischen Serums. Aus den oben erörterten Anschauungen folgt aber, daß, wenn man überhaupt spezifische Sera verwenden will, große Mengen auf einmal zu applizieren sind, um den Organismus mit Schutzstoffen zu überschwemmen und den Bakterien keine Zeit zu lassen, sich daran zu gewöhnen, sie sozusagen zu überrumpeln. Auch wird

natürlich diese Einwirkung um so aussichtsvoller sein, je früher sie vorgenommen wird, d. h. je weniger sich die Keime haben vermehren und anpassen können und je geringer die durch sie bereits gesetzten Läsionen sind. Sodann muß man, um die therapeutische Verwendung bakterizider Sera gehörig zu würdigen, sich vor die Augen halten, daß diese Sera neben den spezifischen bakteriziden Substanzen auch bakteriotrope enthalten (falls nicht beide identisch sind, wofür manches spricht), und daß Serumfestigkeit nicht immer zugleich auch Phagocytoseresistenz bedeutet (Bail und Rubritius). Endlich, wie schon oben erwähnt wurde, ist es möglich und sogar recht wahrscheinlich, daß die Verwendung von tierischen Bakterien oder ihren Produkten, den Aggressinen, zur Immunisierung es ermöglichen wird, Sera zu erlangen, die auch gegenüber tierischen Bakterien stand halten, die also auch bei natürlichen Infektionen sich als heilkräftig erweisen dürften.

Literaturnachweis.

Die in meiner Arbeit von 1903 angegebenen 79 Literaturnummern sind hier nicht aufgenommen und wird daher auf das dort gegebene Literaturverzeichnis als Ergänzung hingewiesen.

- Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. XXX. p. 348—371. Bd. XXXII. p. 132—171.
 —, Wien. klin. Wochenschr. 1906. p. 1278—1281.
 —, Arch. f. Hyg. Bd. LII.
 Bail, O. u. Hoke, E., Wien. klin. Wochenschr. 1906.
 Bail, O. u. Pettersson, A., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVII, XXXIII—XXXVI.
 Bail, O. u. Rubritius, H., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII.
 Beattie, Journ. of Path. and Bact. Vol. VIII. p. 143—144, 147.
 Behring, Berl. klin. Wochenschr. 1903.
 Bergey, Fol. haematol. 1906. p. 748.
 Besserer u. Jaffé, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
 Birch-Hirschfeld zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Bliessener zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Bokenham, Brit. med. Journ. 1892. No. 1654. p. 576.
 Boni, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVIII. p. 705.
 Bonome, A., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 97—102.
 Bordet, J., Ann. de l'Inst. Past. T. XI. p. 177—213.
 Bruce, D., zit. bei Koch, Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 1708.
 Bukojemski, Journ. de Physiol. T. VI. p. 821.
 Burkhardt, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIII. p. 139—158.
 Charrin, A. et Roger, E., Compt. Rend. Soc. de Biol. 1897.
 Citron, J., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 241.
 Cohn, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV.
 Conradi, H., Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 49.
 Cole, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVI. p. 370.
 Curlo, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 556.
 Day, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 784—786. — Journ. of Inf. Dis. Vol. III. p. 446—451.
 Denys et Leclef, Cellule. T. XI. p. 177—221.
 Deutsch, L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. p. 223.
 Deutsch u. Feistmantel, Impfstoffe und Sera. 1904.
 Dschunkowsky, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXV. p. 488.
 Dürk zit. bei Hess, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.
 Ehrlich, P., Chemotherapeutische Trypanosomenstudien. (Berl. klin. Wochenschr. 1907.)
 Eisenberg, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 739—764.)
 —, Ibid. Bd. XL.
 —, Compt. Rend. Soc. de Biol. 1907. Avril.
 Eppenstein u. Korte, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 1149—1152.
 Erben, F., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. p. 370—376.
 Flexner, S., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 99—112.

- Franke, Münch. med. Wochenschr. 1905. p. 2060.
 Forssner, Journ. de Physiol. T. V. p. 950.
 Friedberger, E., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 623.
 —, Ibid. Orig. Bd. XL. p. 405—409.
 Friedberger, E. u. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1905. p. 1414.
 Goodwyn, M., Bull. Inst. Pasteur. T. III. p. 730.
 Gotschlich, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIII. p. 290.
 Grassberger, R. u. Schattenfroh, A., Sitz-Ber. d. k. Akad. d. Wiss. Wien. Math.-Nat. Kl. Bd. CXIV. p. 607—656.
 Gruber, M. u. Futaki, K., Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 249—255.
 Harbitz, F., Untersuchungen über Häufigkeit und Lokalisation der Tuberkulose. Christiania 1905.
 Hata, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 479—480.
 Heim, L., Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 427.
 —, Arch. f. Hyg. Bd. XL.
 Hektoën, L. and Ruediger, S., Journ. of Inf. Dis. Vol. II. p. 128—141.
 Hirschbruch, A., Arch. f. Hyg. Bd. LVI. p. 280—340.
 Hoke, E., Zeitschr. f. Heilkunde. 1904.
 Huber, O., Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 16. p. 360.
 Huntemüller, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. p. 170—174.
 Jürgens, Berl. klin. Wochenschr. 1905. p. 141—144.
 Kälble zit. bei Hess, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.
 Kamen, L., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV.
 Karwacki, L., Serodyagnostyka spraw zakaźnych. Warszawa 1904.
 —, Gazeta lekarska. 1907. No. 9, 10.
 Kisskalt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. p. 26—27.
 Kleine, Deutsche med. Wochenschr. 1905. p. 913.
 Kleine u. Möllers, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 232—234.
 Koch, R., Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 1708.
 Kocher u. Tavel, Vorlesungen über chirurgische Infektionskrankheiten. I. Teil. p. 76.
 Kossel, Schütz, Weber, Miessner, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXIII. p. 768.
 Krauszkin, Arch. russ. des sciences biol. T. V. 1897. p. 261—317.
 Levaditi et Inman, Compt. Rend. Soc. de Biol. 1907. p. 683, 725, 817, 869.
 Levaditi et Roché, Compt. Rend. Soc. de Biol. 1907. p. 619—621, 815—817.
 Levy u. Kayser, Münch. med. Wochenschr. 1906. p. 2434.
 Lignières, Bull. de l'Inst. Pasteur. T. V. p. 421.
 Loeffler, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1240—1243.
 Löhlein, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. Beil. p. 32—36. — Ann. de l'Inst. Pasteur. T. XX. p. 939—961.
 —, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 31.
 Löwenstein, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LV. p. 429—450.
 McFadyen et McConkey, Journ. de Physiol. T. V. p. 1201.
 Manfredi u. Frisco, zit. bei Hess, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.
 Marchand, Arch. méd. expér. T. X. p. 253—294.
 Marco del Pout, Bull. de l'Inst. Pasteur. T. V. p. 46.
 Marenghi,
 Marie, A., Compt. Rend. Soc. de Biol. T. LXII. p. 156.
 Marshall and Knox, Mason, Journ. of Med. Res. Vol. XV. p. 325—353.
 Massart, Ann. de l'Inst. Pasteur. T. VI. p. 322.
 Martini, Bericht über die Wirkungsweise des Pestserums. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. L. p. 62—63.)
 Maurel, Congr. internat. de la tuberc. Paris. 1905. T. I. p. 185—190.
 Memmi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIX.
 Metchnikoff, E., L'Immunité. Paris 1901.
 Merello, Bull. de l'Inst. Pasteur. T. III. p. 90. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 277.
 Müller u. Gräf, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 874—875.
 Myszkowski, zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Naegeli, Virchows Arch. Bd. CLX. p. 426.
 Naunyn, zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Neisser u. Wechsberg, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. p. 299—349.
 Neufeld, F., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LXIV. p. 181.
 Neufeld, F. u. Hüne, Arb. a. d. kais. Ges.-Amte. Bd. XXV. p. 164—202.
 Neumann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. p. 46—57.
 Nitsch, R., Bull. de l'Acad. des Sciences de Crac. 1906.

- Nuttall, F. G., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 144.*
 Obermeier, zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Otto, R., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig.*
 Pane u. Lotti, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 720.*
 Panichi, L., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIX. p. 662.*
 Perez, zit. bei Hess, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.*
 Pettersson, A., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. p. 73—81.*
 —, *Bioch. Centralbl. Bd. V. p. 693.*
 Pizzini, zit. bei Hess, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.*
 Polverini, *Münch. med. Wochenschr. 1903. p. 650.*
 Preisz, H., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. p. 209—210.*
 Pröschner, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 444—445.*
 Quadrone, *Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 563.*
 Rabinowitsch, L., *Deutsche med. Wochenschr. 1907.*
 Remlinger, *Compt. Rend. Soc. de Biol. 1907. p. 802.*
 —, *Bull. Inst. Pasteur. T. V. p. 403.*
 Robertson, *Journ. of compar. Path. 1906.*
 Rosenow, *Journ. of Inf. Dis. Vol. IV. p. 285—296. Vol. III. p. 683—700.*
 Rössle, *Arch. f. Hyg. Bd. LIV. p. 23—24, 30.*
 Roux, E. et Vaillard, L., *Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.*
 Rubritius, H., *Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 1212. — Prag. med. Wochenschr. 1907.*
 Ruediger, G., *Journ. of the Amer. Med. Assoc. 1905. Jan. p. 21.*
 Sacharoff, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 411—418.*
 Sasecki, zit. bei Wladimiroff in Kolle u. Wassermann. Bd. III. p. 89.
 Sawtschenko, *Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902. p. 108—109. — Ibid. 1897.*
 Schattenfroh, A., *Arch. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 1—81.*
 Schilling, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. p. 186.*
 —, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 797—798.*
 Simon, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 448.*
 Sobernheim, *Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 949.*
 Söllner, *Münch. med. Wochenschr. 1904. p. 1681.*
 Spengler, C., zit. bei Hess, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.*
 Steinhardt, E., *Journ. of Inf. Dis. Vol. II.*
 Stern, R. u. Korte, W., *Berl. klin. Wochenschr. 1904.*
 Stiennon, A., *Compt. Rend. Soc. de Biol. 1907. p. 646, 821, 604.*
 Tarozzi, G., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XL. p. 452.*
 Theiler, R., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. p. 401—405.*
 Thomassen, *Bull. de l'Inst. Pasteur. T. V. p. 420.*
 Tizzoni, G. u. Panichi, L., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVI. p. 25—47.*
 Troussaint, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. p. 708—709.*
 Tschistovitsch, *Ann. de l'Inst. Pasteur. 1904. p. 306.*
 Vallée, H., *Bull. de l'Inst. Pasteur. T. IV. p. 638.*
 Wallgren, *Zieglers Beitr. Bd. XXV. p. 206—272.*
 Walsham zit. bei Hess, *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.*
 Wechsberg, F., *Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 5.*
 Weichselbaum, A. u. Bartel, *Wien. klin. Wochenschr. 1905. p. 241—244.*
 Weil, E., *Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 228.*
 —, *Arch. f. Hyg. Bd. LII. p. 419. Bd. LIV. p. 165.*
 Zilberberg et Zielony, *Ann. de l'Inst. Pasteur. 1902.*

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Leukocyten für die Immunität.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Karolinischen Instituts in Stockholm.]

Von Dr. Alfred Pettersson.

In einigen vorhergehenden Arbeiten (1) habe ich zu zeigen gesucht, daß die schon lange Zeit gekannte bakterizide Wirkung der Leukocyten auf dem Gehalt an keimfeindlichen Substanzen beruht, die von den Serumbakteriolytinen ganz zu trennen sind. Die ersteren sind hitzebeständiger als die letzteren, sind bisweilen durch ganz andere Wirkungsweise gekennzeichnet und werden von den unbeschädigten Zellen nicht an die umgebende Flüssigkeit abgegeben. Ich habe deswegen für sie den Namen Endolysine vorgeschlagen. Die Serumbakteriolytine dürften dagegen wahre Sekrete sein. Die Formen von Immunität, bei denen die Bakterienvernichtung durch die bakteriziden Leukocytenstoffe besorgt wird, wie z. B. bei der Immunität gegen Milzbrand und *Proteus*-Infektion, unterscheiden sich in mehreren Beziehungen von der durch die Serumbakteriolytine hervorgerufenen Immunität bei Typhus und Cholera. Ich habe die Studien über Milzbrand verfolgt und in der letzten Zeit außerdem die Wirkung der Leukocyten auf Strepto- und Pneumokokken untersucht, zwei Infektionserregern, die in Bezug auf den Infektionsverlauf sehr an Milzbrand erinnern.

I. Neue Versuche über die Milzbrandimmunität.

Da die Leukocyten der von Natur an milzbrandimmunen oder -resistenten Tiere viel stärker keimtötend auf die Milzbrandbacillen wirken als die der empfänglichen, und da weiter beim Immunisieren gegen Typhus und Cholera die bakterizide Wirkung des Serums bedeutend zunimmt, sollte man von vornherein erwarten, daß die Immunisierung eines milzbrandempfindlichen Tieres von einer Erhöhung der Leukocytenbakterizidie betreffs der genannten Bakterie begleitet werden würde. In Bezug auf das Kaninchen hat sich dies, wie ich früher hervorgehoben habe, aller Wahrscheinlichkeit nach als zutreffend erwiesen. Ich führe noch ein Beispiel an (Tabelle I).

Das halbstündige Erhitzen bei 64° hat die Wirkung freilich geschwächt, aber nicht aufgehoben. In den Röhren, für welche keine Zahlen nach 6 Stunden angegeben sind, war weder Wachstum noch Abnahme sicher zu konstatieren.

Beim Betrachten der nachstehenden Tabelle muß es auffallend wirken, daß der Unterschied in Bezug auf die bakterizide Wirkung zwischen den Leukocyten des hochimmunen und den des normalen Kaninchens nicht größer ist. Die bakterizide Kraft der Leukocyten des behandelten Tieres steigt bei weitem nicht in dem Grade wie die Immunität. Daraus kann man schließen, daß die keimtötende Wirkung der Leukocyten auf die Milzbrandbacillen nicht die einzige Bedingung für die Immunität ist. Daß eine Anhäufung der bakteriolytischen Substanzen in den Leukocyten bei der erworbenen Milzbrandimmunität nicht in dem Maße stattfindet, wie im Serum bei der Typhus- und Choleraimmunität, kann übrigens

Aus der Tabelle geht deutlich hervor, daß den Leukocyten tatsächlich Schutzwirkung zukommt. Schon vorher habe ich auf diese Erscheinung aufmerksam gemacht (2). Es handelte sich da um Hundeleukocyten, die sich im stande zeigten, Milzbrandinfektion beim Meerschweinchen zu verhindern. Damals waren aber die Verhältnisse für das Auftreten einer Bakterizidie der Leukocyten bedeutend günstiger, da sie gemischt mit den Milzbrandbacillen subkutan eingeführt wurden. In Bezug auf das Kaninchen scheint kein großer Unterschied zwischen den normalen und den aus immunisierten Tieren stammenden Leukocyten zu bestehen. Ein anderes Verhalten war übrigens kaum zu erwarten, da die keimtötende Wirkung der letzteren, wie die Versuche in Reagiergläsern zeigten, nicht viel stärker ist als die der ersteren. Die durch die Leukocyten erhaltene Resistenz ist von kurzer Dauer. Nach ungefähr 3 Wochen wurde denselben Tieren wieder je $\frac{1}{2000}$ Oese Milzbrandbacillen subkutan mit dem Erfolg injiziert, daß sie sämtlich der Infektion erlagen.

Die intravenöse Injektion von Leukocyten ruft eine mäßige Leukocytose hervor. Da nun auch die normalen Leukocyten, in die Blutbahn eingeführt, Schutzwirkung entfallen, entstand der Gedanke, daß vielleicht ein Ausbleiben der Leukocytose nach der Milzbrandinfektion zu der großen Empfänglichkeit des Kaninchen beiträgt. Deshalb wurde eine Untersuchung der Menge der weißen Blutkörperchen beim Kaninchen vor der Infektion und zu bestimmten Zeitpunkten nach derselben vorgenommen, sowohl bei normalen als bei aktiv und passiv immunisierten Tieren und bei Infektionsdosen verschiedener Größe.

Tabelle III.
Normale Kaninchen.

Gewicht der Tiere	Infektionsdosis	Zahl der Leukocyten in Kubikmillimeter			
		Vor d. Infektion	Nach 6 Std.	Nach 12 Std.	Nach 24 Std.
1420 g	$\frac{1}{10000}$ Oese	11 300	12 600	8 100	10 800
1690 "	$\frac{1}{5000}$ "	8 300	10 100	9 950	9 900
1580 "	$\frac{1}{2000}$ "	14 650	10 000	14 700	12 750
1160 "	$\frac{1}{1000}$ "	15 500	9 250	11 550	7 900
1360 "	$\frac{1}{500}$ "	7 800	6 700	9 800	7 400
1680 "	$\frac{1}{100}$ "	7 800	9 600	10 200	8 900
1520 "	$\frac{1}{50}$ "	17 800	13 500	13 650	14 150
1650 "	$\frac{1}{10}$ "	4 450	4 500	5 300	4 800
1610 "	1 "	15 450	11 400	14 750	14 300

Tabelle IV.
Immunisierte Kaninchen.

Bezeichnung der Tiere	Gewicht	Infektionsdosis	Zahl der Leukocyten in Kubikmillimeter			
			Vor d. Infekt.	Nach 6 Std.	Nach 12 Std.	Nach 24 Std.
K. 261	2850 g	$\frac{1}{5000}$ Oese	10 350	22 500	19 350	15 850
" 282	2060 "	$\frac{1}{1000}$ "	11 600	13 300	11 300	9 350
" 229	4. 6. 2720 "	$\frac{1}{500}$ "	14 000	12 250	12 500	11 550
" 241	2630 "	$\frac{1}{100}$ "	12 300	10 800	11 900	
" 229	12. 5. 2740 "	$\frac{1}{10}$ "	11 100	12 350	13 400	13 450
" 229	20. 3. 2800 "	1 "	14 200	12 100	13 500	12 400
" 229	12. 4. 2920 "	3 "	11 400	8 850	7 200	14 500
" 201	2120 "	2 Kultur.	18 500	9 900	14 100	21 750

Tabelle V.

Normale Kaninchen, denen vor der Infektion Milzbrandimmunserum vom Kaninchen intravenös injiziert worden war.

Ge- richt	Menge und Ur- sprung des Immunserums	Infek- tionsdosis	Zahl der Leukocyten in Kubikmillimeter				Ausfall
			Vor d. Infekt.	Nach 6 Std.	Nach 12 Std.	Nach 24 Std.	
80 g	3 ccm Im.K. 199	$\frac{1}{10000}$ Oese	17 500	16 150	10 100	12 200	Lebt
45 "	3 " " 199	$\frac{1}{8000}$ "	9 700	14 500	8 600	9 800	"
10 "	3 " " 200	$\frac{1}{2000}$ "	14 950	13 700	11 800		"
70 "	3 " " 185	$\frac{1}{1000}$ "	19 600	16 950	16 300	10 500	"
30 "	3 " " 185	$\frac{1}{1000}$ "	9 900	13 450	11 450		"
30 "	5 " " 201	$\frac{1}{800}$ "	11 350	11 950	14 000	9 400	+ am 4. Tage
20 "	5 " " 201	$\frac{1}{500}$ "	10 300	11 700	10 200	12 300	+ am 5. Tage
70 "	6 " " 201	$\frac{1}{500}$ "	8 200	9 200	40 100 ¹⁾		Lebt

Tabelle VI.

Verschiedene immune oder immunisierte Tiere.

Bezeichnung der Tiere	Ge- wicht	Infektionsdosis und Infektionsweise	Zahl der Leukocyten in Kubikmillimeter			
			Vor der Infektion	Nach 6 Std.	Nach 12 Std.	Nach 24 Std.
Junger normaler Hund	14 kg	$\frac{1}{1000}$ Oesesubkut.	13 500	17 900	18 800	
Erwachs. immun. Hund	25 "	1 Oese subkut.	10 400	12 600	26 600	32 300
" " "	13 "	3 Kulturen iv.	13 000	28 100	25 300	20 400
Junger " "	10 "	5 " "	12 600	15 100	20 600	18 200
Erwachs. immun. Ziege	20 "	2 " subkut.	4 700	14 350	17 400	12 400

Die Menge der Leukocyten des Blutes kann bei dem Kaninchen zu verschiedenen Zeiten nicht unbedeutend wechseln. Jedes Ansteigen oder Sinken der Anzahl derselben darf deshalb nicht unbedingt als von der Infektion abhängig betrachtet werden. Hat man dies vor Augen, so glaube ich, daß man aus den wiedergegebenen Bestimmungen der Zahl der weißen Blutkörperchen zu dem Schlusse gelangt, daß nach Milzbrandinfektion beim Kaninchen eine Leukocytose als Regel nicht vorkommt. Es leuchtet sofort ein, daß es dem Hunde und den anderen immunen Tieren zum großen Vorteile gereichen muß, daß die Leukocyten nach der Infektion in größerer Menge auftreten. Ebenso klar ist es wohl auch, daß die mangelnde Leukocytose für das Kaninchen ein Nachteil ist und zu seiner Empfänglichkeit gegen Milzbrand beiträgt.

Die Ursache, daß nach einer Infektion die Leukocytose ausbleibt, kann offenbar zweierlei Art sein. Entweder mangelt es den Bakterien an Stoffen, die Leukocyten anziehen, oder auch enthalten sie stark negativ chemotaktisch wirkende Substanzen. Bei schwerer Infektion des Meerschweinchens von der Bauchhöhle aus mit Typhus fehlen dort die polynukleären Leukocyten fast vollständig, während bei gelinder Infektion eine mehr oder weniger starke Ansammlung derselben stattfindet. Durch Injektion von Immunserum kann nun veranlaßt werden, daß die Menge Bakterien, die sonst eine schwere Infektion ohne Leukocytenanhäufung veranlaßten, eine leichte solche mit fast eitrigen Exsudate hervorrufen. Diese Veränderung beruht offenbar darauf, daß mit dem Immunserum Opsonine injiziert wurden, welche die negativ chemotaktisch wirkenden Substanzen neutralisierten, die vorher die Leukocyten fernhielten. In dieser Weise kann aber das Ausbleiben der Phagocytose beim Kaninchen

1) Hatte während des Tages geworfen.

nach Injektion von Milzbrandbacillen nicht erklärt werden. Denn solchenfalls würde bei den immunisierten Tieren nach Einführen kleiner Mengen Bacillen Leukocytose auftreten ebenso wie bei den normalen nach Injektion von Immunserum; dies findet aber, wie aus den Tabellen hervorgeht, nicht statt.

Bekanntlich zeigen sich verschiedene Kaninchen ein wenig ungleich empfänglich gegen Milzbrandinfektion, so daß nach gleicher Infektionsdosis einige bedeutend später eingehen als die Mehrzahl. Bei sehr kleiner Dosis, unter $\frac{1}{10\,000}$ Oese, trifft es sogar ein, daß einzelne Tiere überleben. Bis jetzt hat man keinen Erklärungsgrund dafür gefunden. Nach den vorigen Ausführungen in Bezug auf die Bedeutung der Leukocyten für die Milzbrandimmunität halte ich es für sehr wahrscheinlich, daß die längere Lebensdauer eben auf einen größeren Gehalt von Leukocyten zurückzuführen ist.

Nun sind nicht nur die Leukocyten von Bedeutung für die Milzbrandimmunität, sondern auch das Serum trägt dazu bei. Dies geht unter anderem daraus hervor, daß es Schutzwirkung entfaltet. Eine bakteriolytische Wirkung des Serums wird wohl jetzt von niemand angenommen. Schon 1893 machte Issaëff (3) die Beobachtung, daß virulente Pneumokokken beim immunisierten Kaninchen von den Leukocyten aufgenommen werden, bei dem normalen dagegen nicht. Die Ursache dieser Freßfähigkeit der Leukocyten hat er nicht studiert. 2 Jahre später konnten aber Denys und seine Mitarbeiter Leclef und Marchand (4) in Bezug auf die Streptokokken nachweisen, daß die Anwesenheit von Immunserum für das Auftreten der Phagocytose nötig ist und daß die Leukocyten des normalen Tieres unter solchen Verhältnissen ebenso wirksam sind wie die des immunisierten. Die die Phagocytose fördernde Wirkung des Immunserums auf die Streptokokken wurde von Bordet (5) bestätigt. In Beziehung auf die Pneumokokken haben Mennes (6) und Huber (7) dasselbe gefunden. In den letzten Jahren ist diese Eigenschaft der Immunsera gegen Pneumo- und Streptokokken besonders von Neufeld und Rimpau (8) hervorgehoben worden. Inzwischen ist von Wright (9) und seinen Mitarbeitern entdeckt worden, daß auch normales Serum die Phagocytose fördert. Diese Eigenschaft beruht darauf, daß das Serum Substanzen enthält, von Wright Opsonine genannt, welche die bei den Bakterien vorkommenden, die Freßzellen fernhaltenden Stoffe, neutralisieren. Schon aus den vorher angeführten Beobachtungen geht hervor, daß eine Neubildung der die Phagocytose fördernden Substanzen beim Immunisieren stattgefunden haben muß. Den Typhusbacillus betreffend, ist dasselbe von Leishman (10), Wright (11) und mir (12) festgestellt worden. Unter solchen Umständen mußte der Gedanke nahe liegen, daß die Schutzwirkung des Milzbrandimmunserums eben auf seinen Gehalt an Phagocytose fördernder Substanz ankommt. Diese Frage ist freilich mehrmals studiert worden, ich halte aber die Ergebnisse nicht für ganz beweisend, da die Versuche fast regelmäßig im Reagiergläschen angestellt wurden und noch dazu sehr oft mit wenig virulenten Bacillen. Um Tiere zu sparen und dem Bestimmen des Schutzwertes des Serums zu entgehen, habe ich die Versuche auf diese Weise ausgeführt, daß normale Leukocyten und virulente Bakterien in die Bauchhöhle eines immunisierten Tieres eingeführt wurden.

Tabelle VII.

Dem immunisierten Kaninchen 229, das vor etwa 3 Wochen 4 Oesen virulenter Milzbrandkultur subkutan bekommen hatte, wurde eine Aufschwemmung in Kochsalz-

lösung von 1,0 g normalen Kaninchenleukocyten und 4 Oesen virulenter Milzbrandbacillenkultur intraperitoneal injiziert.

Sofort nach der Injektion. Die Leukocyten recht gut isoliert und gut färbbar. Mäßig reichlich, gleichförmig verteilte, kurze Ketten von Milzbrandbacillen.

Nach 15 Minuten. Die Leukocyten zu größeren oder kleineren von Milzbrandfäden umschlungenen Haufen stark verklumpt; die Bacillen geschwollen. Einzelne Leukocyten enthalten ein oder mehrere Stäbchen oder das Ende einer Bacillenkette. Sehr oft sind die Leukocyten längs der Ketten aufgereiht und die Bacillen von den Leukocyten aufgenommen, entweder an der Seite des Kerns oder, wenn die Zellen mehrkernig sind, zwischen diesen. Ein großer Teil der Leukocyten nimmt die Farbe nur schlecht an.

Nach 45 Minuten. Die Phagocytose ist fortgeschritten. Jedoch sind eine bedeutende Menge Fäden frei. Die Leukocyten und auch die Milzbrandstäbchen färben sich bisweilen sehr schlecht; die letzteren sind fast alle stark gequollen.

Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden. Der herausgeholte Bauchhöhleninhalt enthält isolierte, nicht bacillenhaltige Zellen und Klumpen von Milzbrandfäden und Leukocyten, von denen viele Phagocytose zeigen; bisweilen können innerhalb der Zellen 6—8 Stäbchen gezählt werden. Außerhalb der Klumpen kommen freie Milzbrandketten nicht vor. Das Tier bleibt am Leben.

Einem normalen 2090 g schweren Kaninchen wurden 1,0 g normale Kaninchenleukocyten und 2 Oesen virulente Milzbrandbacillen intraperitoneal injiziert.

Sofort nach der Injektion. Reichlich gut isolierte Leukocyten, zahlreiche, gleichmäßig verteilte, nicht sehr lange Milzbrandfäden.

Nach 15 Minuten. Die Leukocyten äußerst stark verklumpt und von den Milzbrandfäden umschlungen. Wirkliche Phagocytose ist nirgends zu sehen, obwohl die Fäden oft quer über die Leukocyten gehen.

Nach 45 Minuten. Der herausgehobene Bauchhöhleninhalt enthält nur kleine einkernige Leukocyten in geringer Zahl.

Nach 1 $\frac{1}{2}$ Stunden. Der Peritonealinhalt von derselben Beschaffenheit wie vorher. Das Tier wurde deshalb getötet und die Bauchhöhle untersucht. Die injizierten Leukocyten und Milzbrandbacillen wurden, zusammengeballt zu recht großen Klumpen und Fetzen, zwischen den Gedärmen wiedergefunden. Die Bacillen sind teilweise stark geschwollen, wie früher keine Phagocytose.

Die Milzbrandbacillen werden beim Normalkaninchen von den Leukocyten nicht aufgenommen. Ebenso wenig habe ich in der Bauchhöhle des normalen Meerschweinchens nach Injektion von Bacillen und Leukocyten jemals wirkliche Phagocytose beobachtet. In diesem Punkte stimme ich Gruber und Futaki (13) vollständig bei. Beim Immunkaninchen aber ist die Phagocytose unzweifelhaft. Daß die injizierten Leukocyten eben die Fresszellen sind, dürfte auch keinem Zweifel unterliegen. Während der kurzen Beobachtungszeit, bis die Phagocytose wahrzunehmen ist, findet sicherlich keine bedeutende Zufuhr von vielkernigen Leukocyten statt. Der Unterschied zwischen dem normalen und immunisierten Kaninchen muß folglich auf die Körperflüssigkeit ankommen. Da nun die keimtötenden Stoffe gegen Milzbrandbacillen in den Leukocyten stecken, so wird es ganz klar, daß die Schutzwirkung des Milzbrandimmunserums darin besteht, daß es ermöglicht, daß die bakteriziden Stoffe in Berührung mit den Bacillen kommen. Damit soll natürlich nicht verneint werden, daß bei der obigen Versuchsanordnung Bacillen vielleicht auch extracellulär zu Grunde gehen.

Von der Wirkungsweise der nicht bakteriolytischen Immunsera ist nichts anderes bekannt, als diese die Phagocytose befördernde Eigenschaft. Es wäre aber denkbar, daß sie Substanzen enthalten können, welche die Vernichtung der Bakterien durch die Leukocytenstoffe erleichtern. Ich sehe dabei von der gewöhnlichen Komplettierung von Serumambozeptoren durch die Komplemente der Leukocyten, wie z. B. beim Kaninchen, Hund und Huhn, ab. Für das Erforschen dieser Frage eignet sich das Kaninchenserum wegen seiner intensiven Wirkung auf

die Milzbrandbacillen sehr wenig. Die Versuche wurden deshalb mit Ziegenserum und normalen Hundeleukocyten angestellt.

Tabelle VIII.

Serum und Leukocyten eines normalen Hundes. Die Menge der Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt betrug 0,25 g. Die eingesäten Milzbrandbacillen waren vorher 1 Stunde bei + 37° teils mit Immunserum, teils mit Normalserum von der Ziege behandelt und sodann gewaschen worden. Zu je 2 Oesen Kultur wurden 5 ccm Serum genommen.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 5 Std.	Nach 20 Std.
Mit Normalserum behandelte Bacillen	1 ccm Hundeserum 1 " Bouillon 1 " Bouillonleukocytenextrakt 1 " do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°	Etwa 5200	> 50 000 > 50 000 2 496 4 760	Vermehrung " 23 1888
Mit Immunserum behandelte Bacillen	1 " Hundeserum 1 " Bouillon 1 " Bouillonleukocytenextrakt 1 " do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		> 50 000 > 50 000 1 456 3 810	Vermehrung " 78 1248

Das Leukocytenextrakt wirkt auf die mit Normalserum behandelten Bacillen genau so wie auf die, welche mit Immunserum in Berührung waren. Das Immunserum ist folglich für die Keimvernichtung selbst völlig belanglos. (Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Bakteriolytisches Serum gegen Vibrionen ohne bakteriotrope Wirkung.

[Aus dem staatl. sero-therapeutischen Institute in Wien. Vorstand:
Prof. R. Paltauf.]

Von Dr. St. Bäcker.

In einer jüngst erschienenen Publikation (1) gelangen Neufeld und Hüne zu dem von Neufeld und Rimpau (2) schon früher bei Strepto- und Pneumokokken mitgeteilten Ergebnis, daß die bakteriotropen Antikörper des Immunserums von den im Plattenversuch nachweisbaren bakteriolytischen durchaus verschieden seien. Sie finden hierin eine Erklärung für die oft mangelnde Uebereinstimmung der Wirkung vieler Immunsera im Tier- und Plattenversuch. Im einzelnen stützen sie jene Folgerung wesentlich auf folgende Beobachtungen: 1) Ebenso wie es für eine große Zahl septikämischer Bakterienarten früher nachgewiesen worden sei, enthalten die Immunsera gegen Paratyphus und Hogcholera keine im Plattenversuch nachweisbaren bakteriolytischen Ambozeptoren, dagegen wirken sie, und zwar auch wechselseitig, stark bakteriotrop, 2) Typhus- und Cholera-Immunsera enthalten neben dem bakteriolytischen Antikörper eine spezifisch bakteriotrop wirkende Komponente. Beim Vergleich verschiedener Typhussera von Kaninchen mit Seris von Typhuskranken zeige sich der bakterizide Titer im Plattenversuch keineswegs parallel dem phagocytosefördernden. Eine Folgerung aus diesem Vergleich scheint allerdings nicht ganz einwandfrei, da die scheinbar geringere bakteriotrope Wirkung der Menschensera möglicherweise durch direkte Schädigung der

Meerschweinchenleukocyten hervorgerufen war. 3) Auch die hämotrope und die hämolytische Serumwirkung sei, wie aus früheren Arbeiten hervorgeht (Neufeld), auf zwei verschiedene Körper zurückzuführen. Auf Grund von Ablenkungsversuchen mit Hefe, sowie durch spezifische Präzipitation leugnen Neufeld und Hüne das Vorhandensein phagocytosefördernder Substanzen besonderer Art (Opsonine) im normalen Serum, wie solche nach Wright und Douglas (3) von einer Reihe von Untersuchern festgestellt wurden. Die sogenannte „opsonische“ Wirkung des Normalserums, die auch sie beobachteten, beruhe vielmehr auf dem Komplement und habe daher mit der spezifisch bakteriotropen nichts zu tun.

Hectoen (4), der letzteren Standpunkt der Autoren nicht teilt, hat andererseits schon vor einiger Zeit den Nachweis erbringen können, daß das Opsonin des normalen Hundeserums nicht identisch mit dem bakteriziden Ambozeptor dieses Serums für Milzbrand sei. Erhitztes Hundeserum lasse nämlich seine bakterizide Fähigkeit durch Kaninchenserumkomplement reaktivieren, nicht aber seine opsonische.

Da es auch mir schon vor einiger Zeit gelang, das prinzipielle Ergebnis Neufeld und Hünes, die Differenzierung von Bakteriolyysin und -tropin (Immunoposonin) in ganz eindeutiger Weise zu erhalten, soll in folgendem das Wesentliche dieser Untersuchungen mitgeteilt werden. Technisch waren dieselben ähnlich denen der beiden Autoren. Es wurde an verschiedenen Vibrionenstämmen gleichzeitig die bakterizide und bakteriotrope Wirkung von Normal- und Immunserum geprüft.

Das Immunserum erhielt ich von Kaninchen, welche ein oder mehrmals vorher 3,0–10,0 ccm Filtrat von Bouillonkulturen des *Vibrio Eltor* V subkutan injiziert worden war¹⁾. Zum Vergleich diente gleich altes, gleich behandeltes Serum normaler Kaninchen resp. dieselbe Menge Bouillon. Als Komplement verwendete ich frisches, normales Meerschweinchen Serum. Die Aufschwemmung der Vibrionen erfolgte im Gegensatz zu Neufeld und Hüne stets in Kochsalzlösung und war die von ihnen beobachtete starke Keimverminderung in diesem Medium für die Ergebnisse ohne Belang, obwohl ich stets viel kleinere Bakterienmengen verwendete.

Bei den Versuchen zum Nachweis der bakteriotropen Wirkung enthielten die Röhrchen je 0,2 ccm Serum (Serumverdünnung, Bouillon oder physiologische Lösung) je 0,2 ccm Vibrionenaufschwemmung in Kochsalzlösung ($\frac{1}{33}$ — $\frac{1}{2000}$ Oese) entsprechend, und je 0,2 ccm Aufschwemmung von Meerschweinchenleukocyten. Sie wurden gewöhnlich $\frac{1}{2}$ Stunde im Brutschrank belassen, dann aufgeschüttelt, Ausstriche gemacht und diese nach Leishman-Romanowsky gefärbt.

Die Leukocyten stammen aus dem Peritoneum von Meerschweinchen nach Injektion kalter physiologischer Lösung (4–6 Stunden), wurden 3mal mit 1-proz. Natrium-Citratlösung gewaschen und dann in etwa ursprünglicher Dichte in Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Wie ich schon bei früherer Gelegenheit (5) auseinandersetzte, halte ich in der Mehrzahl

1) Auch mit anderen Immunseris gegen Vibrionen (Kalif, Kamé und Diana von Pferden stammend) wurden gleiche Untersuchungen vorgenommen. Die Ergebnisse stimmen völlig mit den hier folgenden überein, doch war in diesen Fällen das Fehlen von vermehrter Phagocytose im inaktiven Immunserum nicht schlechterdings für den Mangel von Bakteriotropinen beweisend, da dem Pferdeserum eine zweifellos schädliche Wirkung auf die Meerschweinchenleukocyten zukam.

der Fälle, besonders bei Vibrionen, die Ausführung der Zählung nach Wright und Douglas für praktisch unmöglich, und habe auch diesmal wieder, soweit ich nicht überhaupt auf Zahlen verzichtete, nur den Prozentsatz der phagocytierenden Leukocyten festgestellt. Sehr häufig waren intracellulär neben intakten Vibrionen stark gefärbte, verschieden große Granula zu sehen, was ich ebenfalls als Phagocytose betrachte. Auch extracelluläre Auflösung ließ sich natürlich in den entsprechenden Präparaten häufig beobachten, doch habe ich im Gegensatz zu Neufeld und Hüne den Eindruck gehabt, daß dieser Befund für die Phagocytose keineswegs gleichgültig war.

Bei den bakteriziden Versuchen wurden in der Regel nach 1—2-stündigem Aufenthalt im Brutschrank der ganze Inhalt der Röhrchen zu Agarplatten verarbeitet. Ausnahmsweise erfolgte auch bei dichteren Vibrionenaufschwemmungen die Uebertragung nach Oesen, eventuell nach weiterer Verdünnung in bestimmten Bouillonmengen. Nach 24-stündigem Verweilen im Brutschrank wurden die Resultate festgestellt, nach weiteren 24 Stunden nochmals verglichen.

Neufeld und Hüne fanden im Serum aller mit Cholera immunisierten Tiere (Kaninchen, Esel, Ziege) neben der ausgesprochen bakteriziden Wirkung im Plattenversuch eine stark phagocytosefördernde. Diese komme allerdings nur gegenüber virulenten Stämmen zum Ausdruck, da avirulente bereits in den Kontrollen in physiologischer Lösung außerordentlich stark phagocytiert würden.

In meinen Versuchen hat sich zunächst letztere Beziehung zwischen Virulenz und Phagocytoseintensität im neutralen Medium nicht beobachten lassen. Unter den 10 verschiedenen Vibrionenstämmen, welche zur Untersuchung gelangten, fand sich trotz ihrer verschiedenen Virulenz keiner, der nicht schon in Bouillon oder physiologischer Lösung eine wenn auch geringe Phagocytose erlitten hätte, obwohl viel kleinere Bakterienmengen verwendet wurden als Neufeld und Hüne angeben. Untereinander zeigten sie auch nicht gerade beträchtliche Differenzen und diese waren nicht konstant, so daß ich fast glaube, daß eher auf die Ungenauigkeit der Mengenabmessung nach Oesen zurückzuführen wären (Versuch I und die entsprechenden Kontrollen der Versuche II, III, IV und VI).

Versuch I.

Phagocytose verschiedener Vibrionenstämmen in Bouillon und inaktivem normalen Serum.

0,2 Kaninchenserum 79 auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt, 17 Tage alt.

0,2 Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat, 3mal gewaschen.

0,2 Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündiger Agarkultur, enthaltend $\frac{1}{1000}$ Oese.

Ausstriche nach 1 Stunde bei 37°.

Vibrionen- stämme	Cholera Saigon K	Cholera Saigon L	Cholera Pfeiffer	Cholera Krakau	Eltor 15 nicht spez.	Eltor V spez.	Eltor I nicht spez.	Elvers	Nasik	Metachni- koff
in 0,2 Serum	gering	gering	gering	fehlt ¹⁾	gering	gering	gering	deutl. stärker	gering	fehlt
in 0,2 Bouillon	"	"	"	gering	"	"	"	gering	"	gering

In den aus Serum stammenden Ausstrichen durchwegs nur spärlich freie intakte Vibrionen, dagegen mehrfach intra- und extracelluläre Granula; in den aus Bouillon

1) Weder intra- noch extracellulär waren intakte Vibrionen sichtbar.

stammenden Präparaten erscheinen die Leukocyten vielfach vergrößert, schlechter gefärbt, die Grenzen höchst unregelmäßig, die Kerne in Teile zerfallen.

Nicht ganz parallel mit den Resultaten in Bouillon sind, wie schon dieser Versuch zeigt, die im inaktivierten normalen Serum. Während bei einigen Stämmen trotz Inaktivierung, also nach Entfernung normaler Opsonine, nicht unbeträchtliche Steigerung der Phagocytose zu beobachten war, ist bei mehreren anderen eher das Gegenteil eingetreten (Versuche I, II, III).

Versuch II.

Phagocytose verschiedener Vibrionenstämmen im normalen und im Immunserum sowie in Bouillon.

Immunserum vom Kaninchen 74, 8 Tage nach Injektion von 3 ccm Eitorfiltrat V, normales Serum vom Kaninchen 75.

Beide Sera am Vortage entnommen, durch $\frac{1}{2}$ Stunde auf 61° erhitzt, je 0,2 ccm.

0,2 Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat, 3mal gewaschen.

0,2 Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündiger Agarkultur, enthaltend $\frac{1}{100}$ Oese.

Ausstriche nach 1 Stunde bei 37° .

Prozentzahlen der phagocytierenden Leukocyten:

Vibrionenstämmen	Cholera Pfeiffer	Cholera Saigon G	Cholera Saigon K	Cholera Saigon L	Krakau	Eltor V spez.	Eltor I spez.
in Immunserum	40	68	62*	66	16	56*	56
in normalem Serum	28	64	56	60	16	76	80
in Bouillon	42	72	60	40	20	28	70
in 0,2 physiologischer Kochsalzlösung	—	—	—	—	—	—	64

In den aus Bouillon stammenden Ausstrichen die Leukocyten geschwollen, unregelmäßig geformt, unscharf begrenzt, Kerne zerfallen, schlecht gefärbt. In allen Präparaten intracelluläre, stark gefärbte Granula, besonders in den mit * bezeichneten.

Versuch III.

Phagocytose der verschiedenen Vibrionenstämmen im normalen und im Immunserum 74 sowie in Bouillon.

Immunserum vom Kaninchen 74, 10 Tage nach der zweiten Injektion von Eitorfiltrat V (5 ccm).

Normales Serum vom Kaninchen 75.

Beide Sera frisch entnommen, doch bei 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde inaktiviert.

0,2 ccm Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat, 3mal gewaschen.

0,2 ccm Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündigen Agarkulturen, enthaltend $\frac{1}{100}$ Oese.

Ausstriche nach 1 Stunde bei 37° .

Vibrionenstämmen	Cholera Saigon K	Cholera Saigon L	Cholera Pfeiffer	Cholera Krakau	Eltor I nicht spez.	Eltor V spez.	Eltor I spez.	Elvers	Nasik	Metschnik- koff
in 0,2 ccm Immunserum	+	—	+	—	+	+	++	—	—	—
in 0,2 ccm Normaleserum	+	+	+	—	+	+	++	—	—	—
in 0,2 ccm Bouillon	+	—	+	—	+	+	++	—	—	—

Es bedeutet:

⊕ = keine Phagocytose.

— = einige Leukocyten (< 10 Proz.) haben phagocytiert.

++ = die Minderheit der Leukocyten (10—50 Proz.) hat phagocytiert.

+ = die Mehrheit der Leukocyten (50—99 Proz.) hat phagocytiert.

∞ = alle sichtbaren Leukocyten haben phagocytiert.

In fast allen aus Serum stammenden Proben scheinbar spärlicher freie Vibrionen als in denen aus Bouillon, in dieser Deformierung der Leukocyten.

Höchst auffallend war aber, daß alle untersuchten Stämme, also auch der zur Immunisierung gebrauchte *Vibrio* Eltor V, im inaktiven Immunserum niemals merklich stärker phagocytiert wurden als im normalen inaktiven Serum, auch dann nicht, wenn in diesem nur sehr schwache Phagocytose eingetreten war. Bakteriotropine mußten jedoch nach Neufelds Untersuchungen auch im inaktivierten Immunserum erhalten geblieben sein (Versuch II, III u. VI). Daß ebensowenig im frischen aktiven Immunserum gesteigerte Phagocytose zu konstatieren war, war nicht verwunderlich. Hier war vielmehr neben exzessiver Verminderung der sichtbaren Vibrionen so gut wie gar keine Phagocytose zu erkennen, während gleichzeitig im inaktiven Normalserum bis 100 Proz. der Leukocyten phagocytiert hatten. Erst mit steigender Verdünnung des aktiven Immunserums war allmählich stärkere Phagocytose zu beobachten, die aber auch im inaktiven Immunserum allein die im normalen nicht erreichte (Versuch IV).

Versuch IV.

Phagocytose in Verdünnungen des aktiven Immunserums R und im normalen Serum.

Immunserum vom Kaninchen R, 13 Tage nach Injektion von 10 ccm Eltorfiltrat V, normales Serum vom Kaninchen 4.

Beide Sera frisch und bei 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde inaktiviert, $\alpha\alpha$ mit physiologischer Lösung verdünnt.

Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat, 3mal gewaschen, je 0,2 ccm. Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündiger Agarkultur von nicht spezif. *Vibr.* Eltor I, je 0,2 ccm enthaltend. a) $\frac{1}{33}$, b) $\frac{1}{1000}$ Oese.

Austriche nach 1 Stunde bei 37°. Methylenblaufärbung.

Prozentzahlen der phagocytierenden Leukocyten:

Serum nicht erhitzt	0,2 Immunserum	0,1 Immunserum	0,03 Immunserum	0,01 Immunserum	0,005 Immunserum	ϕ	0,2 Serum 4	0,1 Serum 4	0,03 Serum 4	ϕ
Serum erhitzt	ϕ	0,1 Immunserum	0,17 Immunserum	0,19 Immunserum	0,195 Immunserum	0,2 Immunserum	ϕ	0,1 Serum 4	0,17 Serum 4	0,2 Serum 4
a) $\frac{1}{33}$ Oese	ϕ^2	ϕ^2	20% ϕ^2	56% ϕ^1	48% ϕ^2	44% ϕ^2	20% ϕ^2	20% ϕ^2	90% ϕ^2	100% ϕ^2
b) $\frac{1}{1000}$ Oese	ϕ^1	ϕ^1	ϕ^1	ϕ^1	4% ϕ^2	12% ϕ^2	8% ϕ^2	8% ϕ^2	40% ϕ^2	44% ϕ^2

Diese Ergebnisse sind wohl geeignet, die Annahme zu erwecken, daß im inaktiven und, wenn man die Hitzebeständigkeit der Bakteriotropine mit Neufeld voraussetzt, daher auch im aktiven Immunserum Bakteriotropine gegen Cholera im Sinne Neufelds fehlten. Doch waren zunächst noch mehrere Beobachtungen, die sich im Verlaufe der bisherigen Versuche ergaben, aufzuklären. Es war auffallend, daß in jenen Präparaten, wo im inaktiven Immunserum schwächere Phagocytose als im normalen Serum, oder in diesem schwächere als in den Bouillonkontrollen zu beobachten war, gleichzeitig eine relative Verminderung der sichtbaren Vibrionen überhaupt vorhanden schien. Eine wirkliche

1) In diesen Präparaten waren überhaupt keine Vibrionen sichtbar.

2) In diesen Präparaten nur vereinzelte Haufen von schlecht gefärbten Vibrionen neben reichlich extracellulären Körnchen.

3) Neben intakten Vibrionen reichlich extracelluläre Granula und schlecht gefärbte Vibrionen.

Keimverminderung konnte bei der Inaktivierung der Sera nur durch ein mit den Leukocyten zugeführtes Komplement hervorgerufen worden sein.

Versuch V.

Plattenversuch zur Feststellung der eventuellen Komplementwirkung der Leukocytenaufschwemmung.

Gleichzeitig mit den für Versuch III aufgestellten Proben, welche Vibr. Eltor V + Leukocyten enthalten, werden auch Röhrchen, welche 0,2 Komplementserumverdünnung resp. 0,2 Bouillonverdünnung statt Leukocytenaufschwemmung enthalten, aufgestellt. Nach 1 Stunde bei 37° wird aus denselben in 2 Verdünnungen auf Agarplatten geimpft. Zählung nach 12 Stunden. Die Komplementserumverdünnung ist frisches Meerschweinchenserum 1:3 physiologische Lösung, ebenso die Bouillonverdünnung 1:3 physiologische Lösung.

Die Aussaatmengen sind I. je 2 Oesen (= ca. 10 mg) aus jeder Probe, enthält also etwa $\frac{1}{100} \cdot 80 = \frac{1}{6000}$ Oese Vibrionenkultur Eltor V. II. je 2 Oesen aus 10 ccm Bouillon, in welche je 3 Oesen aus einer Probe übertragen worden war, enthält also etwa $\frac{1}{100} \cdot 40 \cdot 100 = \frac{1}{400000}$ Oese Kultur.

0,2 Vibrionen- aufschwemmung von Vibrio Eltor V +	Immun- serum	0,2 normales Serum	0,2 Bouillon	Immun- serum	0,2 normales Serum	0,2 Bouillon	Immun- serum	0,2 normales Serum	0,2 Bouillon
	+ 0,2 Leukocyten			+ Komplementserum- verdünnung			+ 0,2 Bouillonver- dünnung		
I. Verdünnung	∞	∞	∞	steril	< 500	∞	∞	∞	∞
II. Verdünnung	< 500	< 500	< 500	steril	steril	46	< 500	< 500	< 500
Kontrollen ohne Vibri- onen	Immun- serum	steril	normales Serum	steril	Komple- ment- serum	steril	Leuko- cyten- aufschw.	steril	

Versuch VI.

Phagocytose der verschiedenen Vibrionenstämme im normalen und im Immunserum Kontrollen in Kochsalzlösung.

Immunserum 74 vom Kaninchen 74 10 Tage nach der dritten Injektion von Eltorfiltrat V.

Normalserum 75 vom Kaninchen 75.

Beide Sera am Vortage entnommen, auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt.

Serum 74 unverdünnt und 3:100 mit physiologischer Lösung verdünnt.

0,2 ccm Meerschweinchenleukocyten aus Peritonealexsudat, 3mal gewaschen.

0,2 ccm Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündigen Agarkulturen, enthaltend $\frac{1}{80}$ Oese.

a) Ausstriche nach 1 Stunde bei 37°.

Vibrionenstämme	Cholera Saigon K	Cholera Saigon L	Cholera Pfeiffer	Krakau	Eltor V spez.	Eltor I spez.	Elvers	Nasik	Meischni- koff
0,2 ccm konzentriertes Immunserum 74	36 ¹⁾	50 ¹⁾	28 ¹⁾	44	48 ¹⁾	48 ¹⁾	36	32	44
0,2 ccm 3-proz. verd. Immunserum 74	32 ¹⁾	44 ¹⁾	28	34	54 ¹⁾	56 ¹⁾	28	28	40
0,2 ccm konzentriertes Normalserum 75	36	60	26	44	84 ¹⁾	96 ¹⁾	48	32	36
0,2 ccm physiologische Lösung	28	42	20	32	44	50	30	28	32

1) Ausgesprochene Haufenbildung seitens der Vibrionen. In den Präparaten aus physiologischer Lösung die Vibrionen meist blasser gefärbt, Leukocyten teilweise deformiert.

b) Ausstriche nach verschiedener Zeit bei 37° aus den Eltor V-Proben.

nach Minuten	10'	25'	40'	60'	80'	120'
Konzentriertes Immunserum 74	12 ¹⁾	22 ¹⁾	20 ¹⁾	48 ¹⁾	54 ¹⁾	28 ¹⁾
3-proz. verd. Immunserum 74	20 ¹⁾	48 ¹⁾	28 ¹⁾	54 ¹⁾	64 ¹⁾	44 ¹⁾
Normalserum 75	24	32	76	84 ¹⁾	98 ¹⁾	78 ¹⁾
Physiologische Lösung	18	32	28 ²⁾	44 ²⁾	56 ²⁾	48 ²⁾

Es gelang jedoch, in einem entsprechenden Falle zu zeigen, daß den gewaschenen Leukocyten keinerlei Komplementwirkung zukam (Versuch V). Jene Keimverminderung war also nur scheinbar, und findet ihre Erklärung einerseits im Agglutinationsvermögen der Sera, das zu ungleichmäßigen Anhäufungen der Vibrionen an beschränkter Stelle führte, andererseits in der Differenz der Färbbarkeit der Vibrionen in den verschiedenen Medien. Wurde als Kontrolle nicht Bouillon, sondern physiologische Kochsalzlösung verwendet, so schienen umgekehrt im Serum reichlicher Vibrionen vorhanden zu sein und diese waren auch deutlich besser gefärbt. Gegenüber der Kochsalzlösung war übrigens die Phagocytose im Serum stets mehr oder weniger gesteigert (Versuch VIa).

Extracelluläre Keimverminderung konnte demnach auch nicht die Ursache sein, daß im inaktiven Immunserum etwa vorhandene Bakteriotropine nicht in verstärkter Phagocytose sichtbar wurden. Es war nur noch zu untersuchen, ob nicht die im inaktiven Immunserum etwa massenhaft aufgenommenen Vibrionen zur Zeit der Untersuchung intracellulär schon verschwunden waren. In diesem Falle mußte bei Entnahme der Ausstriche nach kürzerer Zeit doch ein Moment gefunden werden, wo diese starke Phagocytose sichtbar war. Auch dies war jedoch

Versuch VII.

Plattenversuch zum Nachweis der bakteriziden Wirkung des Immunserums R (gleichzeitig mit Versuch IV).

Frisches Immunserum vom Kaninchen R.

Frisches normales Serum vom Kaninchen 4.

Frisches normales Serum vom Meerschweinchen VIII.

Sämtliche Sera frisch und durch Erhitzung auf 61° durch 1/2 Stunde inaktiviert. Aufschwemmung von *Vibrio Eltor* I in physiologischer Lösung von 24-stündiger Agarkultur entsprechend a) 0,5 ccm = $\frac{1}{50.000}$, b) 0,5 ccm = $\frac{1}{1.000.000}$ Oese. 0,5 Vibrionenaufschwemmung + 0,2 Serum 1 Stunde bei 37° gehalten, dann zu Agarplatten verarbeitet.

0,2 Serum	Aktives Immunserum R	Inaktives Immunserum R	Aktives Serum 4	Inaktives Serum 4	Aktives Serum VIII	Inaktives Serum VIII
a) $\frac{1}{50.000}$ Oese	ϕ	+++	++	+++	+++	+++
b) $\frac{1}{1.000.000}$ Oese	ϕ	++	++	++	+	++

Es bedeutet in diesem und den folgenden Plattenversuchen:

ϕ = nach 24 Stunden keine Kolonien.

++ = nach 24 Stunden < 50 Kolonien.

+++ = nach 24 Stunden < 500 Kolonien.

+++ = nach 24 Stunden > 500 Kolonien, doch deutlich einzelne sichtbar.

∞ = nach 24 Stunden unzählbare, miteinander konfluierende Kolonien.

- 1) Haufenbildung seitens der Vibrionen, teilweise auch seitens der Leukocyten.
- 2) Leukocyten teilweise deformiert.

nicht der Fall (Versuch Vib). Es bleibt demnach der Schluß gerechtfertigt, daß dem untersuchten Immunserum Bakteriotropine überhaupt fehlten. Die untersuchten Stämme zeigten keinerlei Verschiedenheit in der Wirkung des Immunserums, dieses war gegenüber dem homologen Eltorstamm ebenso unwirksam wie gegenüber *Vibrio Metschnikoff*.

Dagegen besaß das Immunserum ausgesprochen bakterizide Fähigkeit im Plattenversuch, und zwar spezifisch gegenüber den homologen

Versuch VIII.

Auswertung der bakteriziden Wirkung des Immunserums 74 auf 3 Vibrionenstämmen
(Fehlen der bakteriotropen Wirkung zeigt Versuch II).

Immunserum von Kaninchen 74 (8 Tage nach Injektion von 3 ccm Eltorfiltrat V).
Normalserum von Kaninchen 75.

Beide Sera, 7 Tage alt, auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt.

Komplementserum vom normalen Meerschweinchen XV, frisch.

Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündigen Agarkulturen
je 0,2 ccm = $\frac{1}{1000000}$ Oese.

Aussaat der ganzen Gemenge nach 2 Stunden bei 37° zu Agarplatten.

Inaktives Immunserum	—	—	—	—	—	0,25	0,2	0,05	0,01	0,001
Inaktives Normalserum	—	—	0,25	0,2	0,05	—	—	—	—	—
Komplementserum	0,25	0,05	—	0,05	0,05	—	0,05	0,05	0,05	0,05
Bouillon	0,25	0,45	0,25	0,25	0,4	0,25	0,25	0,4	0,44	0,449
+ 0,2 Vibr. Cholera Pfeiffer	+	++	+++	+	+	+++	+	+	+	+
+ 0,2 Vibr. Eltor V (spezifisch)	+++	∞	∞	+	∞	∞	+	+	+	+
+ 0,2 Vibr. Eltor I (spezifisch)	∞	∞	∞	++	∞	+++	+	+	+	+
0,5 Bouillon +	0,2 Vibr. Cholera Pfeiffer		+++	0,2 Vibr. Eltor V		∞	0,2 Vibr. Eltor I		+++	
Kontrollen	Immunserum		steril	Normalserum		steril	Komplementserum		steril	

Versuch IX.

Auswertung der spezifischen bakteriziden Wirkung des Immunserums 74 an *Vibrio Eltor V* und *Metschnikoff* (Fehlen der bakteriotropen Wirkung zeigt Versuch VI).

Immunserum 74 von Kaninchen 74 (10 Tage nach der dritten Injektion von Eltorfiltrat V).

Normalserum 75 von Kaninchen 75.

Beide Sera, 2 Tage alt, auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt.

Komplementserum vom normalen Meerschweinchen XVII (1 Tag auf Eis aufbewahrt).

Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündigen Agarkulturen,
je 0,2 ccm = $\frac{1}{1000000}$ Oese.

Aussaat der ganzen Gemenge nach 2 Stunden bei 37° zu Agarplatten.

Inaktives Immunserum	—	—	—	—	—	0,25	0,2	0,01	0,001	0,0001
Inaktives Normalserum	—	—	0,25	0,2	0,02	—	—	—	—	—
Komplementserum	0,25	0,05	—	0,05	0,05	—	0,05	0,05	0,05	0,05
Bouillon	0,05	0,25	0,05	0,05	0,23	0,05	0,05	0,24	0,249	0,25
<i>Vibrio Eltor V</i>	∞	∞	∞	+	∞	+++	+	+	+	+
<i>Vibrio Metschnikoff</i>	+	++	+++	+	++	+++	+	++	++	++
Kontrollen ohne Vibrionen	Immunserum 74		steril	Normalserum 75		steril	Komplementserum		steril	

Stämmen (Eltor V und Eltor I sowie Cholera Pfeiffer), nicht aber gegenüber *Vibrio Metschnikoff* (Versuch VII, VIII, IX). Die bakterizide Fähigkeit ließ sich bis zu hohen Verdünnungen (bis 0,0001) nachweisen, während sie im normalen Kaninchenserum, auch in dem der später immunisierten Tiere entweder ganz fehlte oder sehr gering war (Versuch X).

Versuch X.

Vergleich der bakteriziden Wirkung verschiedener normaler Kaninchensera, darunter von dem später immunisierten Kaninchen 74 und dem Kontrolltier Kaninchen 75.

Sera der normalen Kaninchen 33, 74, 75 und 79, sämtlich 4 Tage alt, auf 61° durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitzt.

Komplementserum vom Meerschweinchen XIII, frisch.

Als Ergänzung bei den in Bouillon hergestellten Serumverdünnungen diente erhitztes Serum vom Meerschweinchen XIII.

Vibrionenaufschwemmung in physiologischer Lösung von 24-stündigen Agarkulturen von *Vibrio Eltor I*, je 0,2 ccm = $\frac{1}{5000000}$ Oese, je 0,2 Vibrionenaufschwemmung + 0,5 Serum + Bouillongemisch, durch 2 Stunden bei 37°.

Aussaat der ganzen Gemenge zu Agarplatten.

Kan.-Ser.	0,25	0,2	0,1	0,05	0,01	0,001	Kompl.-Ser.	Ergänz.-Ser.	+02 Eltor I
Ergänz.-Ser.	—	—	0,1	0,15	0,19	0,2	—	0,25	+++
Kompl.-Ser.	—	0,05	0,05	0,05	0,05	0,05	0,01	0,24	+++
Serum 33	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0,05	0,2	+++
" 74	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0,1	0,15	+++
" 75	+++	3	++	+++	+++	+++	0,25	—	+++
" 79	+++	+++	+++	+++	+++	+++	0,5 Bouillon	—	+++

Kontrollen	Serum 33	Serum 74	Serum 75	Serum 79	Kompl.-Ser.	Ergänz.-Ser.
ohne Vibrionen	steril	steril	steril	steril	steril	steril

Ich hatte also durch Immunisierung ein Serum erhalten, welches deutlich gesteigerte spezifische bakterizide Fähigkeit für *Cholera*vibrionen besitzt, ohne im geringsten auf dieselben Stämme stärker bakteriotrop zu wirken als normales Serum. Da andererseits Neufeld und Hüne gleichzeitig bakteriotrop und bakterizid wirkende Immunsera gegen *Cholera* darstellen konnten, ergibt sich, daß auch die gegenüber *Cholera* wirksamen bakteriotropen und bakteriolytischen Antikörper nicht identisch sein können, sondern nebeneinander, aber auch eventuell die einen ohne die anderen vorkommen.

Literatur.

(Ausführliche Angaben bei Neufeld und Hüne.)

- 1) Neufeld u. Hüne, Untersuchungen über bakterizide Immunität und Phagocytose. (Arb. a. d. kais. Gesundheitsamte. Bd. XXV. Heft 1.)
- 2) Neufeld u. Rimpau, Ueber die Antikörper des Streptokokken- und Pneumokokkenimmunserums. (Dtsche med. Wochenschr. 1904. p. 1458.)
— —, Weitere Mitteilungen über die Immunität gegen Streptokokken und Pneumokokken. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LI. p. 283.)
- 3) Wright and Douglas, An experimental investigation of the rôle of the blood fluids in connection with phagocytosis. (Proceed. of the roy. soc. Vol. LXXII. p. 357.)
- 4) Hectoën, The rôle of phagocytosis in the anthracidal action of dog blood. (The Journ. of infect. dis. Vol. III. 1906. p. 102.)
- 5) Bächer, Ueber Beeinflussung der Phagocytose durch normales Serum. (Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. LVII. 1907. p. 33.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Antikörper des Meningococcus.

II. Mitteilung.

Von Sanitätsinspektor Dr. Markl.

Ich habe in dieser Zeitschrift (Bd. XLIII. Heft 1) das Ergebnis von Versuchen mitgeteilt, welche den Nachweis von Antikörpern im Blutserum von mit Meningokokken behandelten Tieren zum Gegenstand hatten. Der Nachweis wurde mittels des Bordet-Gengouschen Komplementablenkungsversuches geführt, wobei dichte Aufschwemmungen von 14 Stunden alten Agarkulturen des Meningococcus (1 Agarkultur auf 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung) in abgestuften Mengen von 0,1—0,05—0,01 ccm zur Anwendung kamen. Diese Versuche, welche ich mit mehreren, mit demselben Meningokokkenstamme gewonnenen Seren wiederholte, fielen zuerst durchaus negativ aus, so daß es den Anschein hatte, daß es nicht mit jedem Meningokokkenstamme und nicht bei allen Tieren gelingt, Antikörper zu erzeugen. In dieser Ansicht bekräftigten mich auch die bisherigen Literaturangaben, laut welcher die Gewinnung von Meningokokkenimmunserum bei kleinen Versuchstieren nicht gelingen sollte.

Als ich die unterbrochenen Versuche nach den Ferien wieder aufgenommen habe, standen mir zuerst mehrere Wochen alte Extrakte von Meningokokken in physiologischer Kochsalzlösung zur Verfügung. Mit diesen Extrakten wiederholte ich nun meine Versuche unter sonst gleicher Versuchsanordnung, und da zeigte sich die überraschende Tatsache, daß sämtliche von mir gewonnenen Sera, sowie das von Merck bezogene Meningokokkenserum bei dem Komplementablenkungsversuche die Anwesenheit von Antikörpern erkennen ließen, indem bei Zusammentreffen von Immunserum mit höheren Extraktmengen (0,1—0,2 ccm) das Komplement gebunden — die Hämolyse gehemmt wurde bzw. vollkommen ausblieb. Das Ergebnis dieser Versuche wird in der folgenden Tabelle (Versuch I) veranschaulicht.

Versuch I
mit 3 Monate alten Extrakten von Meningokokken.
(1 $\frac{1}{2}$ Agarkultur auf 1 ccm NaCl-Lösung.)

NaCl 9‰	Extrakt	Immunserum	Komplement (Meersch.-Ser.)	Sensibilisiertes Hammelblut	Resultat
1 ccm	0,2 ccm	No. II 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	minimale "
1 "	0,05 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 ccm	0,2 ccm	No. III 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	minimale "
1 "	0,05 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 ccm	0,2 ccm	Merck 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 ccm	—	—	—	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,2 ccm	—	—	4 "	"
1 "	0,2 "	—	0,1 ccm	4 "	Auflösung
1 "	0,1 "	—	0,1 "	4 "	"
1 "	0,05 "	—	0,1 "	4 "	"
1 "	—	—	0,1 "	4 "	"

Nun griff ich wieder zu Aufschwemmungen von Meningokokken in physiologischer Kochsalzlösung zurück, nur mit dem Unterschiede, daß ich nicht, wie ursprünglich, 14-stündige, sondern 24 Stunden alte Kulturen verwendete. Der Stamm war derselbe, mit welchem meine Sera gewonnen worden waren, und der in schwach alkalischer, luftdicht verschlossener Kalbfleischbouillon ohne Ueberimpfung über die Ferien seine Vitalität erhalten hatte.

Das Resultat der Versuche war, wie aus der nachfolgenden Uebersicht (Versuch II) zu entnehmen ist, das nämliche wie mit den Extrakten: der Nachweis der Antikörper ist in allen Seren durch das Ausbleiben der Hämolyse gelungen.

Versuch II
mit 24 Stunden alten Meningokokkenkulturen.
(1 Agarkultur auf 1 ccm NaCl-Lösung.)

NaCl 9‰	Kultur- Aufschwem- mung	Immunserum	Komplement (Meersch.-Ser.)	Sensibili- siertes Hammelblut	Resultat
1 ccm	0,2 ccm	No. II 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	minimale "
1 ccm	0,2 ccm	No. III 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 ccm	0,2 ccm	Merck 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 ccm	—	—	—	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,2 ccm	—	—	4 "	" "
1 "	0,2 "	—	0,1 ccm	4 "	Auflösung "
1 "	0,1 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	—	—	0,1 "	4 "	" "

Der Vollständigkeit halber sei erwähnt, daß die Versuche auch mit den Jägerschen Kokken angestellt wurden, wobei auch eine Hemmung der Hämolyse bei Zusammentreffen dieser Kokken mit Meningokokken-

Versuch III
mit 24 Stunden alten Jägerschen Kokken.
(1 Agarkultur auf 1 ccm NaCl-Lösung.)

NaCl 9‰	Kultur- Aufschwem- mung	Immunserum	Komplement (Meersch.-Ser.)	Sensibili- siertes Blut	Resultat
1 ccm	0,2 ccm	No. II 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	minimale Auflös.
1 "	0,1 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 "	0,05 "	" II 0,1 "	0,1 "	4 "	Auflösung
1 ccm	0,2 ccm	No. III 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	partielle Auflösung
1 "	0,1 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	Auflösung
1 "	0,05 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 ccm	0,2 ccm	Merck 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	minimale Auflös.
1 "	0,1 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	partielle "
1 "	0,05 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	Auflösung
1 ccm	—	—	—	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,2 ccm	—	—	4 "	" "
1 "	0,2 "	—	0,1 ccm	4 "	" "
1 "	0,1 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	—	0,1 "	4 "	minimale "
1 "	—	—	0,1 "	4 "	Auflösung

serum wahrzunehmen war, aber durchaus nicht auf die Anwesenheit von Antikörpern zurückzuführen ist, da, wie aus den Kontrollproben des Versuches III hervorgeht, die Jägerschen Kokken schon an und für sich, ohne Zusatz von Immunserum, die Eigenschaft besitzen, das Komplement des frischen Meerschweinchenserums zu binden — abzulenken und als Reagens bei der Hämolyse auszuschalten.

Nachdem der Nachweis von Antikörpern des Meningococcus in den Immunseren mit Extrakten und 24-stündigen Kulturen gelang, während er mit 14-stündigen Kulturen unter Anwendung der üblichen Mengen Antigens (0,01—0,1 ccm) nicht gelingen wollte, lag die Vermutung nahe, daß das Alter der Kultur von Belang sein müsse, mit anderen Worten, daß die Antikörper der Immunsera in der jungen Bakterienzelle wenig Antigen vorfinden. Als Beleg sei der Versuch IV angeführt, der unter gleichen Bedingungen wie der Versuch II ausgeführt wurde.

Versuch IV
mit 14 Stunden alten Meningokokken.
(1 Agarkultur auf 1 ccm NaCl-Lösung.)

NaCl 9‰	Kultur- Aufschwem- mung	Immunserum	Komplement (Meersch.-Ser.)	Sensibili- siertes Blut	Resultat
1 ccm	0,2 ccm	No. III 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	partielle Auflösung
1 "	0,1 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	totale "
1 "	0,05 "	" III 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 ccm	0,2 ccm	Merck 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,1 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	größtenteils "
1 "	0,05 "	" 0,1 "	0,1 "	4 "	totale "
1 ccm	—	—	—	4 ccm	keine Auflösung
1 "	0,2 ccm	—	—	4 "	" "
1 "	0,2 "	—	0,1 ccm	4 "	totale "
1 "	0,1 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	0,05 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	—	—	0,1 "	4 "	" "

Man könnte aber einwenden, daß nicht das Alter der Kultur, sondern lediglich die Menge des Kulturmateriales, welche bei den Versuchen zur Anwendung gelangte, ausschlaggebend war. Es ist selbstverständlich, daß eine 24 Stunden alte Kultur üppiger ist und mehr Individuen enthält, als eine um 10 Stunden jüngere Kultur. Allein der Unterschied in der Zahl der Individuen ist nicht so groß, daß er in nach Kubikcentimetern gemessenen Quantitäten in Betracht käme. Um das zu beweisen, habe ich mir zwei dichte Aufschwemmungen von Meningokokken hergestellt, eine von 14-stündiger, die andere von 24-stündiger Kultur. Die Aufschwemmung der 14-stündigen Kultur war aber auffallend dichter, als jene der 24-stündigen Kultur, indem sie die Kulturmasse von zwei dicht besäten Agarflaschen in 5 ccm Kochsalzlösung enthielt, während bei der 24-stündigen Kultur bloß der Inhalt einer Agarflasche mit 5 ccm Kochsalzlösung aufgenommen worden war.

Mit diesen Aufschwemmungen wurde der nachfolgende Versuch angestellt, aus welchem ohne weiteres zu ersehen ist, daß nur mit der 24 Stunden alten Kultur der Nachweis von Antikörpern deutlich gelingt (s. Tabelle p. 178).

In diesem Versuche wurde außer einem hochwertigen, von einem seit mehreren Monaten immunisierten Hammel herstammenden Serum (No. IV) auch das Serum von einem Kaninchen (No. V) geprüft, welches

Versuch V

mit 14 Stunden alter Meningokokken (2 Agarflaschenkulturen auf 5 ccm NaCl)-Aufschwemmung I und

mit 24 Stunden alter Meningokokken (1 Agarflaschenkultur auf 5 ccm NaCl)-Aufschwemmung II.

NaCl 9/100	Kultur- Aufschwem- mung	Immunserum	Komplement (Meersch.-Ser.)	Sensibili- siertes Blut	Resultat
1 ccm	I. 0,2 ccm	No. IV 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	partielle Auflösung
1 "	I. 0,1 "	" IV 0,1 "	0,1 "	4 "	"
1 "	I. 0,05 "	" IV 0,1 "	0,1 "	4 "	größtenteils "
1 ccm	II. 0,2 ccm	No. IV 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	keine Auflösung
1 "	II. 0,1 "	" IV 0,1 "	0,1 "	4 "	"
1 "	II. 0,05 "	" IV 0,1 "	0,1 "	4 "	minimale "
1 ccm	I. 0,2 ccm	No. V 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	größtenteils Auflös.
1 "	I. 0,1 "	" V 0,1 "	0,1 "	4 "	totale "
1 "	I. 0,05 "	" V 0,1 "	0,1 "	4 "	" "
1 ccm	II. 0,2 ccm	No. V 0,1 ccm	0,1 ccm	4 ccm	partielle Auflösung
1 "	II. 0,1 "	" V 0,1 "	0,1 "	4 "	größtenteils "
1 "	II. 0,05 "	" V 0,1 "	0,1 "	4 "	totale "
1 ccm	I. 0,2 ccm	—	—	4 ccm	keine Auflösung
1 "	II. 0,2 "	—	—	4 "	"
1 "	I. 0,2 "	—	0,1 ccm	4 "	größtenteils "
1 "	II. 0,2 "	—	0,1 "	4 "	fast totale "
1 "	I. 0,1 "	—	0,1 "	4 "	totale "
1 "	II. 0,1 "	—	0,1 "	4 "	" "
1 "	—	—	0,1 "	4 "	" "

bloß zweimal mit 3 bzw. 5 ccm einer mehrere Wochen alten Meningokokken-Bouillonkultur intraperitoneal injiziert wurde. Durch diese Behandlung konnte das Tier selbstverständlich keine hohe Immunität erreicht haben, und dennoch ließen sich bereits in dessen Serum mit Hilfe der 24-stündigen Kultur Antikörper nachweisen.

Ich muß also aus meinen Versuchen den Schluß ziehen, daß es durchaus nicht schwer ist, wie man früher glaubte, Antikörper des Meningococcus selbst bei kleinen Laboratoriumstieren zu gewinnen, daß es jedoch unerlässlich ist, zu deren Nachweise ältere Kulturen (wenigstens 24 Stunden alte) zu verwenden, weil diese Antikörper auf ganz junge Kokken wenig einwirken. Ob und welches Heilprinzip das Meningokokkenimmunserum enthält, muß weiteren Untersuchungen vorbehalten bleiben.

Nachdruck verboten.

Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des k. und k. Militärsanitätskomitee.]

Von

Dr. R. Doerr, und **Dr. H. Raubitschek,**
Regimentsarzt. Oberarzt.

(Schluß.)

Das Verfahren nach Evans und Russel hat, wie sofort einleuchtet, alle Vorzüge des Autans, insbesondere die einfache und bequeme Handhabung und die Feuerungefährlichkeit, ohne die Nachteile desselben zu besitzen.

Es gelangen zwei Körper von konstanter und gleichbleibender Konstitution zur Verwendung¹⁾, Kalium hypermanganicum cryst. und Formalin, welche überall vorrätig sind, und von jeder Drogerie bezogen werden können. Die Substanzen sind ziemlich billig: 1 kg Formalin kostet etwas über 1 Krone, das Kalium hypermanganicum cryst. erhielten wir von der Militärmedikamentendirektion in Wien um 1 Krone 4 Heller pro Kilogramm geliefert, und dürfte sich dieser Betrag bei direktem Bezuge von der Fabrik und größerem Bedarfe noch weiter reduzieren. Selbst bei den Quantitäten, welche die von uns vorgeschlagene Verbesserung erheischt, kosten 100 cbm ca. 4 Kronen, also nur das Doppelte des Praussnitzschen Sprayverfahrens, wobei aber die Anschaffungskosten resp. die Amortisationsquote für einen oder gar mehrere Apparate in Abzug zu bringen sind, was bei seltener Benutzung sehr ins Gewicht fällt. So kostet beispielsweise ein Sprayapparat nach Praussnitz (Modell B) für 200 cbm Luftraum 72 Kronen; man könnte also nach unserer Methode ein Zimmer dieser Größe 18mal desinfizieren, ohne daß sich eine Preisdifferenz zu Ungunsten unseres Verfahrens ergeben würde.

Natürlich hing die Frage der Verwendbarkeit der Evans-Russel'schen Methode wie beim Autan in erster Linie davon ab, ob dieselbe in desinfektorischer Hinsicht ebenso leistungsfähig ist wie die bisherigen Systeme mit Verdampfungs- oder Sprayapparaten. Wir haben diesen Punkt auch zunächst berücksichtigt und das amerikanische Originalverfahren einer eingehenden Prüfung unterworfen.

Evans und Russel mengten ursprünglich 37 g kristallisiertes Kaliumpermanganat mit 100 ccm käuflichen Formols (35,66 Proz. Formaldehyd). Sie konstatierten eine lebhafte Reaktion, begleitet von starkem Aufschäumen der Flüssigkeit, welche reichliche Formaldehydnebel ausstieß. Nach 5 Minuten war der Prozeß beendet, der im Gefäß zurückbleibende Rückstand war eine vollkommene trockene, braune Masse. Da sie bei diesen Verhältniszahlen einen Formolverlust feststellten, wandten sie später das Formol und Kaliumpermanganat im Verhältnis von 2:1 an. Für die Raumdesinfektion im großen benutzten sie 1000 ccm Formol und 500 g Kaliumpermanganat²⁾ pro 100 cbm, die in einem Eimer oder

1) Der wechselnde Gehalt des Formalins an Formaldehyd (Hammerl) könnte durch behördliche Kontrolle fixiert werden und kommt übrigens wenig in Betracht.

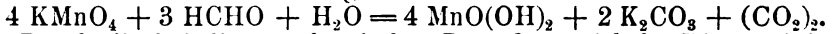
2) Nämlich für ein Zimmer von 61 cbm 600 ccm Formol und 300 g KMnO_4 .

Bleischaff gemengt wurden, welches in der Mitte des betreffenden Raumes aufgestellt war.

Evans und Russel haben das sich entwickelnde Gas analysiert und fanden als Bestandteile: Wasserdampf, Formaldehyd, Kohlensäure und etwas Ameisensäure.

Der im Entwicklungsgefäß restierende Rückstand besteht aus Manganoxyd, Paraldehyd, Kaliumcarbonat und ameisen-saurem Kalium.

Als Formel der Reaktion geben Evans und Russel an:



Durch die bei diesem chemischen Prozeß entwickelte Hitze wird der Ueberschuß von Formaldehyd und Wasser vernebelt.

Die Quantität des freiwerdenden gasförmigen Formaldehyds schwankt je nach der Zimmertemperatur und beträgt bei 15—18° C 38—39 Proz. der in Reaktion gebrachten (im Formol enthaltenen) Menge.

Der erste Vorversuch nach Evans und Russel fiel nun ziemlich ungünstig aus und auch später hatten wir mit dem Originalverfahren keine besseren Erfolge.

Es sei hier gleich das Nötige über unsere Versuchstechnik bemerkt. Da, wie erwähnt, keine Norm für derartige Prüfungen von Formalinmethoden vorliegt, haben wir uns so viel als möglich an den gewöhnlichen Vorgang gehalten und alle Besonderheiten vermieden. Die Kulturen wurden auf Schrägagar angelegt und nach 24 Stunden, bei Anthrax nach eingetretener reichlicher Versporung, in je 10 ccm physiologischer Kochsalzlösung emulgiert; mit den Emulsionen tränkten wir 2 cm lange sterile Fäden von ziemlich dicker chirurgischer Seide oder sterile Fleckchen aus dicker Leinwand von quadratischer Form und 1 cm Seitenlänge. Anfangs kamen auch sterile Glasstückchen (Deckglasfragmente) mit angetrockneten Tropfen der Emulsionen zur Verwendung; später ließen wir davon ab, da diese Versuchsanordnung wohl nur über die Sterilisation dünner, auf glatten undurchlässigen Flächen angetrockneter Bakterien-schichten Aufschluß gibt. Seidenfäden und Leinwandfleckchen wurden nach der Imprägnierung mit Bakterien im Exsikkator über Chlorcalcium getrocknet. Die Exposition erfolgte entweder frei in Petri-Schalen oder in Papierkapseln eingehüllt, welche zum Teil mit einer einfachen Lage von Handtüchern bedeckt oder in den Taschen eines Mantels untergebracht wurden.

Als Testbakterien verwendeten wir anfangs *Pyocyaneus*, *Diphtherie*, *Bact. typhi*, *Bact. coli*, *Staphylococcus aureus*, von Sporenbildnern *Subtilis* und *Anthrax*. Bald haben wir aber die Zahl der Teststämme restringiert. Einerseits vertrugen manche, wie *Pyocyaneus* und *Diphtherie*, das scharfe Austrocknen nicht immer, so daß ein Teil der Kontrollen steril blieb, andererseits ist der Nutzen einer solchen Komplikation der Versuche nicht recht einzusehen. An Uebersichtlichkeit gewinnen die Resultate sicher nicht. Wir begnügten uns also, folgende Stämme zur Prüfung heranzuziehen:

1) Ein Bakterium mittlerer Resistenz, welches das Austrocknen gut verträgt, und zwar das *Bact. typhi*.

2) Ein Bakterium von hoher Resistenz der vegetativen Formen (*Staphylococcus pyogenes aureus*).

3) Einen *Anthrax*stamm als Repräsentanten der pathogenen Sporenbildner, endlich

4) reichliche *Tuberkelbacillen* enthaltendes, an Petri-Schalen angetrocknetes Sputum.

Staphylokokken und Anthraxsporen wurden, um einen vergleichenden Maßstab zu gewinnen, auf ihre Widerstandsfähigkeit gegen Karbolsäure geprüft. Die Anthraxsporen wurden durch 5-proz. wässrige Karbolsäurelösung überhaupt nicht abgetötet, auch nicht nach Wochen; die Staphylokokken verhielten sich, auf Seidenfäden angetrocknet, wie folgt:

Einwirkungsdauer	1 Min.	5 Min.	8 Min.	10 Min.	15 Min.	20 Min.	30 Min.
1-proz. Lösung	+	+	+	+	+	+	+
2-proz. Lösung	+	+	+	—	—	—	—

Die Einwirkungsdauer der Formoldämpfe betrug im allgemeinen 6 Stunden. Nach dieser Zeit wurde mit Ammoniak neutralisiert, um eine protrahierte Formalinwirkung zu verhindern und den Ueberschuß des Desinficiens zu entfernen. Die Objekte kamen sodann in Röhrchen mit je 10 ccm steriler Bouillon¹⁾ und wurden im Thermostaten bei 37° C bis zu 20 Tagen gehalten. Zeigte ein Röhrchen Wachstum, so wurde untersucht, ob es sich tatsächlich um die betreffende Art, und nicht etwa um eine Verunreinigung handle, soweit dies nicht schon aus der Bouillonkultur zu entnehmen war. Von den steril gebliebenen Röhrchen wurde ein gewisser Prozentsatz mit einer Spur der betreffenden Bakterienart beimpft, um die Anwesenheit entwicklungshemmender Mengen des Desinficiens in der Bouillon auszuschließen. Diese Kontrollen zeigten dann stets nach wenigen Stunden üppiges Wachstum. Selbstverständlich wurden auch Proben der Testobjekte in Bouillon gebracht und zwar nicht vor Anstellung des Versuches, sondern gleichzeitig mit den exponierten Proben, sowie 48 Stunden nach Einbringung derselben in den Thermostaten, zu einer Zeit also, wo eine verspätete Auskeimung zu erwarten war.

Die Versuche fanden in 2 Räumen statt. Der kleinere hatte 75 cbm Inhalt, war 3,9 m hoch, hatte 2 große Fenster, eine Ventilationsöffnung, eine 2-flügelige Tür, keinen Ofen. Der größere, in welchem vorwiegend experimentiert wurde, faßte 150 cbm, hatte 2 große Fenster, 2 Doppeltüren, einen eisernen Ofen, und war gleichfalls 3,9 m hoch. Die Abdichtung der Räume erfolgte nur in einem Teil der Versuche (ausdrücklich angegeben) und wurde einem nicht geschulten Personal überlassen, um nicht durch besondere, für die Praxis nicht in Betracht kommende Vorsichtsmaßregeln das Ergebnis zu beeinflussen. Benutzt wurden breite, mit Stärkekleister bestrichene Streifen von Zeitungspapier. Bei nicht abgedichtetem Raum wurden die inneren Flügel der alten, nicht exakt schließenden Fenster völlig geöffnet, die Türen einfach zugeklinkt; nur die Oefen wurden durch bloßes Einlegen eines größeren Blattes Papier zwischen Oeffnung und angelehnter Ofentür versichert.

Zur Anstellung der Reaktion benutzten wir Kalium hypermanganicum crystallisatum und das käufliche Formalin. Kalium hypermanganicum crudum ist leider nicht verwendbar, ebensowenig Calcium hypermanganicum; das erstere aus dem Grunde, weil es nur sehr wenig Formaldehyd entwickelt, das letztere, weil die Reaktion zu stürmisch, fast explosiv erfolgt, so daß man gar keine Zeit hat, das Lokal zu verlassen, und weil beim Aufschäumen ein lebhaftes Verspritzen von Flüssigkeit stattfindet. Das kristallisierte Kaliumpermanganat reagiert erst nach

1) Auf die Bestimmung der Keimzahlverminderung haben wir verzichtet, da die völlige Abtötung einen zwar strengen, aber größere Sicherheit bietenden Maßstab des Desinfektionserfolges bildet.

einigen (etwa 10) Sekunden; man kann sich jedenfalls ruhig aus dem Zimmer entfernen und die Tür schließen, bevor die Vernebelung beginnt. Als Entwicklungsgefäße benutzten wir eiserne, 25 l fassende Töpfe mit breiter Bodentfläche, einen alten hölzernen Waschbottich und alte, nicht zu hohe, dichte, oben offene Fässer. Metallgefäße werden nicht angegriffen, so daß man alle möglichen, in Haushaltungen wohl stets vorhandenen Blecheimer, Badewannen, Kochkessel oder Blechtöpfe, wie sie zum Auskochen der Wäsche Verwendung finden, heranziehen kann. Holzgefäße werden gebräunt, und darf man daher nur alte Bottiche, Fässer oder dergl., auf deren Aussehen kein Gewicht gelegt wird, verwenden.

Da ein sehr lebhaftes Aufschäumen der Masse unter starker Volumsvermehrung erfolgt, etwa so wie beim Kochen von Milch, so kann man, wie beim Autan, nur bestimmte Quantitäten der beiden Substanzen in Gefäßen von gegebenem Inhalt vermengen, denn ein Ueberlaufen über den Rand soll vermieden werden. Erstens könnte hierdurch eine Beinträchtigung des Desinfektionseffektes zu stande kommen, zweitens bilden sich dort, wo die ausgetretene Flüssigkeit den Fußboden (Dielen, Parketten etc.) berührt, häßliche, braune, schwer zu entfernende Flecken. Das ist schon deswegen recht unangenehm, weil durch solche Vorkommnisse das Publikum am meisten irritiert wird und die Popularität des Verfahrens und der Wohnungsdesinfektion überhaupt leidet. Wir vermengten daher in 25 l-Gefäßen nur 1 kg von jedem Reagens; bei größeren Räumen stellt man eben mehrere Gefäße, am besten in verschiedenen Teilen des Zimmers, auf, wodurch auch eine gleichmäßigere Verteilung des Gases bewirkt wird. Jedenfalls empfiehlt es sich, die Gefäße auf Fetzen, alte Säcke, dicke Lagen Sägespäne oder auf alte Tische, Holzladen etc. zu postieren, um jeder Beschädigung des Desinfektionsgutes sicher vorzubeugen. Sind die Gefäße sehr groß (Fässer, Badewannen), so kann man natürlich auch größere Mengen von Formalin und Kaliumpermanganat getrost auf einmal verwenden. Bei alten,

I. Versuch.

Zimmer von 75 cbm, abgedichtet. 500 g KMnO_4 + 1000 ccm Formol. Temperatur 15° C.

Art der Auslegung der Testobjekte		Staphylokokken		Milzbrand	
		offen	in Papierkapseln	offen	in Papierkapseln
I. Am Boden	{ an Glas	—	—	—	—
	{ „ Seide	—	+	—	+
	{ „ Leinwand	—	—	+	+
II. Unter der Decke des Zimmers	{ „ Glas	—	—	—	—
	{ „ Seide	—	+	—	+
	{ „ Leinwand	—	—	+	—
III. Auf einem Tische	{ „ Glas	—	—	—	+
	{ „ Seide	—	+	—	+
	{ „ Leinwand	—	—	—	+
IV. 2 m über dem Boden	{ „ Glas	—	—	—	—
	{ „ Seide	—	+	+	+
	{ „ Leinwand	+	—	—	—
V. In einer halbaufgezogenen Tischlade	{ „ Glas	—	+	—	+
	{ „ Seide	—	+	+	+
	{ „ Leinwand	+	+	—	+

schlechten Fußböden oder Estrich, ferner bei Asphalt, Ziegelpflasterung, Terrazzo entfallen die angegebenen Maßregeln gegen die Beschmutzung von selbst. Ein Verspritzen auf weitere Entfernungen kommt überhaupt nicht vor.

In das Gefäß schüttet man zunächst das Kaliumpermanganat und übergießt es mit der erforderlichen Menge der Formollösung. Ein Umrühren der Masse ist völlig überflüssig.

Im vorstehenden sei nun der erste Versuch nach Evans und Russel geschildert.

Von 60 Objekten waren also nur 37 = 61 Proz. steril, trotzdem die Mengen der Reaktionskörper gegen Evans-Russel erhöht waren (500 g KMnO_4 statt 375 und 1000 ccm Formalin statt 750). Dieser Erfolg hielt sich weit unter der von Flügge als zulässig bezeichneten Grenze, der die Abtötung von mindestens 90 Proz. aller Proben fordert.

Wir entschlossen uns daher, zunächst mit den Formolmengen zu steigen und pro 100 ccm 2000 ccm, also das Doppelte der von den amerikanischen Autoren angegebenen Mengen, zu verwenden.

II. Versuch.

Zimmer von 150 ccm, abgedichtet. 1500 g KMnO_4 + 3000 ccm Formalin, verteilt auf 3 Gefäße (je $\frac{1}{2}$ kg KMnO_4 + 1 l Formalin). Temperatur 18° C. Einwirkungsdauer wie vorher 6 Stunden. Luftfeuchtigkeit vor dem Versuch 58 Proz. (Hygrometer nach Lambrecht und Saussure). Nach 5 Minuten ca. 82 Proz., nach $\frac{1}{2}$ Stunde langsam fallend.

Art und Ort der Exposition		Typhusbacillen		Staphylokokken		Anthrax	
		offen	in Papier	offen	in Papier	offen	in Papier
I. Am Boden	{ an Glas	—	—	—	—	+	+
	{ „ Seide	— — — — ¹⁾	—	—	+	—	—
	{ „ Leinwand	— —	—	—	+	—	+
II. Auf einem Tische beim Fenster	{ „ Glas	— —	—	+	—	—	—
	{ „ Seide	— — — —	—	—	—	—	—
	{ „ Leinwand	—	—	—	—	—	+
III. In einer halbaufge- zogenen Tischschub- lade in der Zimmer- mitte	{ „ Glas	—	—	+	—	+	+
	{ „ Seide	— —	—	—	—	—	—
	{ „ Leinwand	—	—	++	+	++	—
IV. Nahe der Zimmer- decke	{ „ Glas	— —	—	+	—	—	—
	{ „ Seide	— — — —	—	—	—	—	—
	{ „ Leinwand	— —	—	—	—	—	—
V. In der Tasche eines Mantels	„ Leinwand		—		+		—
VI. Von einem Handtuch doppelt gedeckt, 2 $\frac{1}{2}$ m über dem Boden	„ Leinwand		—		+		—

Diesmal waren also von 100 Proben 79 steril. An Petri-Schalen angetrocknetes und nach der Desinfektion in steriler Kochsalzlösung aufgeschwemmtes, reichliche Tuberkelbacillen enthaltendes Sputum war für Meerschweinchen nicht mehr infektiös. (No. 250 mit einer Probe, die am Boden, No. 238 mit einer Probe, die am Fenster, No. 191 mit Sputum,

1) Jedes Zeichen bedeutet eine eigene Probe.

das nahe der Zimmerdecke und No. 167 mit solchem, das in der Schublade gestanden hatte, subkutan injiziert, blieben sämtlich am Leben, nahmen an Gewicht zu und zeigten bei der Obduktion keine tuberkulösen Veränderungen.) Das Ergebnis ist nicht wesentlich besser als im ersten Versuch, wenn man berücksichtigt, daß die empfindlicheren Typhusobjekte das günstigere prozentuelle Verhältnis der sterilen zu den nicht sterilen Proben hauptsächlich bedingen. Zieht man nur die Rubriken „Staphylokokken“ und „Anthrax“ in Rechnung, so beträgt die Zahl der abgetöteten Objekte auch nur 67 Proz.

Für diese Mißerfolge kann die zu geringe Menge verdampften Formaldehyds nicht verantwortlich gemacht werden, wenigstens nicht im zweiten Versuch. Es waren 20 g Formalin = 8 g Formaldehyd pro Kubikmeter verwendet worden, von welchen, wie oben auseinandergesetzt, bei 18° C 39 Proz. = 3,12 g in Gasform übergehen, während der übrige Teil mit dem KMnO_4 in Reaktion tritt und die zur Verdampfung nötige Hitze liefert. Nach Flügges grundlegenden Arbeiten genügen aber bei sorgfältiger Abdichtung der Räume und 7-stündiger Einwirkungsdauer 2,5 g Formaldehyd völlig, um eine ausreichende Oberflächendesinfektion zu erreichen.

Bei der Evans-Russelschen Originalvorschrift (10 g Formalin pro Kubikmeter) ist allerdings auch die entwickelte Formaldehydmenge zu gering (1,56 g pro Kubikmeter); da aber eine Vermehrung derselben aufs Doppelte nicht den erhofften Erfolg hatte, trotzdem die von Flügge postulierten Mengen schon überschritten waren, so mußten die Ursachen der mangelhaften Desinfektion im zweiten Versuche anderswo zu suchen sein.

Es kommen wesentlich zwei Momente in Betracht: 1) die bei Verkothen konzentrierten Formalins eintretende Polymerisation zu Trioxymethylen und 2) die ungenügende Sättigung der Luft mit Wasserdampf.

Daß eine Polymerisation bei Einhaltung der Evans-Russelschen Vorschrift tatsächlich eintritt, kann man leicht konstatieren, wenn man reine Glasflächen in der Nähe der Entwicklungsgefäße aufstellt. Sie beschlagen sich stets mit weißem Paraform. Ueber den Wasserdampfgehalt der Luft werden wir im Versuch II durch die Hygrometer orientiert; trotzdem die Luft schon vor dem Versuch ziemlich feucht war (58 Proz.), stiegen die Instrumente nicht über 82 Proz. Das ist ja von vornherein wahrscheinlich, da eben nur jenes Wasser verdampft wird, welches im käuflichen Formalin das Lösungsmittel des Gases bildet, bei 1000 g Formol also höchstens 600, bei 2000 g 1200 g pro 100 cbm, wobei noch zu bedenken ist, daß ein allerdings geringer Teil des Wassers in die Bildung des trockenen Rückstandes (Manganhydroxyd) eintritt. Diese Wassermengen reichen aber nicht aus. Nach Flügge muß man 3 l Wasser pro 100 cbm vernebeln, um die Luft des zu desinfizierenden Raumes mit Wasserdampf zu übersättigen. Dadurch wird nicht nur die keimtötende Wirkung des Formaldehydgases erhöht, sondern auch eine Polymerisierung hintangehalten.

Wir waren also vor eine Tatsache gestellt, die das Evans-Russelsche Verfahren wegen seiner geringen desinfektorischen Kraft trotz aller in die Augen stechenden Vorzüge als ungeeignet erscheinen ließ. Es war auch klar, daß wir durch einfaches Erhöhen der Quantitäten beider Reaktionskörper nicht zum Ziele kommen konnten; um 3 l Wasser pro 100 cbm zu verdampfen, hätten wir 5 l Formalin und 2½ kg Permanganat benötigt; dadurch wären die Kosten des Verfahrens auf ca. 8 Kronen

pro 100 cbm gestiegen, und außerdem der Uebelstand reichlicher Polymerisation durch Verdampfung konzentrierten Formols nicht aus dem Wege geräumt worden. Ferner wäre es auch technisch undurchführbar gewesen, so große Massen der beiden Reagentien zu vermengen. Bei der Lebhaftigkeit der Reaktion und dem starken Aufschäumen hätte man schon in kleinen Zimmern sehr große und zahlreiche Gefäße benutzen müssen; in größeren Räumen wären die Schwierigkeiten unüberwindlich gewesen.

Setzt man dem käuflichen Formalin Wasser zu, so bleibt wieder die Reaktion aus, ähnlich wie wenn Autan mit zu großen Wassermassen gemengt wird.

Dagegen gelang es uns, durch einen anderen Kunstgriff zum Ziele zu kommen¹⁾. Erhöht man den Zusatz von KMnO_4 in der Weise, daß man ebenso große Gewichtsmengen wie Formol verwendet, so kann man ein gleiches Volumen Wasser hinzufügen. Uebergießt man also 1 kg KMnO_4 mit 1 l Formalin + 1 l Wasser, so vollzieht sich die Reaktion glatt, die Verdampfung erfolgt ebenfalls restlos²⁾, so daß im Gefäß nur eine trockene Masse zurückbleibt. Da das Minimum des zu verdampfenden Wassers 3 l pro 100 cbm beträgt, so ergab sich von selbst eine höchst einfache Formel für eine wirksame Raumdesinfektion.

Für 100 cbm sind 2 kg KMnO_4 , 2 l Formalin und 2 l Wasser bzw. 4 l eines zur Hälfte verdünnten Formols erforderlich. Nach dieser Vorschrift stehen etwa 3000 g Wasser zur Luftsättigung zur Verfügung und 312 g Formaldehyd zur Desinfektion. Durch die Verdünnung des Formalins mußte die Polymerisation eingeschränkt werden, die übrigens auch durch die Wasserverdampfung eine Reduktion erfährt. Der nachstehende Versuch gibt den Beweis für die Richtigkeit dieser Ueberlegungen.

Von 162 Proben waren 3 (in der Tasche eines Mantels) gewachsen, alles übrige steril. Dabei war der Raum ziemlich groß, die Testobjekte an verschiedenen, zum Teil (wie sub I., II., IV., VI., VIII., IX.) schwer zugänglichen und von den Gefäßen weit entfernten Stellen untergebracht. Die Luft enthielt schon nach 5 Minuten maximale Wasserdampfmenngen. Wir öffneten einmal $\frac{1}{2}$ Stunde nach Beginn der Reaktion das Lokal und fanden alle Glasflächen, ferner kalte Metallgegenstände reichlich mit Wasser in Tropfenform beschlagen³⁾. Diese Versuche wurden mehrmals

1) Bei der Abfassung unseres ersten sowie auch des vorliegenden Artikels ist uns leider eine Arbeit von Base (30) entgangen, der gleichfalls empfiehlt, KMnO_4 , Formalin und Wasser im Verhältnis von 1:1:1 anzuwenden, um eine bessere Wassersättigung der Luft herbeizuführen. Das Original ist uns nicht zugänglich, doch scheint Base keine Desinfektionsversuche gemacht zu haben. Uebrigens ist es uns nur darum zu tun, das Evans-Russelsche Verfahren praktisch verwertbar zu machen und zu popularisieren; merkwürdigerweise hat nämlich die amerikanische Methode in Europa keine Beachtung gefunden und auch die wichtige Modifikation nach Base war der allgemeinen Aufmerksamkeit entgangen, während der minderwertige Autanprozeß von allen Seiten eine eingehende kritische Bearbeitung erfuhr.

2) Wenn man 10 g KMnO_4 , 10 g Formalin und 10 g Wasser vermennt, so resultiert nach Ablauf der Reaktion ein Rückstand von 11,5 g, bestehend aus einer braunen, trockenen, schwach nach Formol riechenden, krümeligen Masse. Schon daraus geht hervor, daß nahezu die gesamte Flüssigkeitsmenge verdampft und nur ein verschwindender Teil in die Bildung des Rückstandes eintritt.

3) An dieser Stelle sei kurz erwähnt, daß wir uns im Verlaufe unserer Versuche auch Klarheit zu verschaffen suchten, ob die Kondensation des Formaldehyds ebenso rasch erfolgt wie bei der Anwendung eines der gebräuchlichen Apparate. Bekanntlich hat Peerenboom (28) gezeigt, daß der Formaldehyd sich nicht in gasförmiger Verteilung in der Luft erhält, sondern sehr rasch auf den Flächen niederschlägt, wobei die

wiederholt und ergaben stets das gleiche Resultat. Daher sei von einer Wiedergabe der Protokolle abgesehen.

III. Versuch.

Zimmer von 150 cbm, abgedichtet. Einwirkungsdauer 7 Stunden. Temperatur 20° C. Mengen: 3000 g KMnO_4 + 3 l Formalin + 3 l Wasser zu je 1 kg pro Reagens auf 3 Gefäße verteilt. Hygrometer vor dem Versuche 56 Proz., steigt rapid auf das Maximum, hält sich 1 Stunde auf dieser Höhe, um dann ganz allmählich abzusinken.

Art und Ort der Exposition	Typhus- bacillen		Staphylo- kokken		Anthrax	
	offen	in Papier	offen	in Papier	offen	in Papier
I. Auf dem Boden nahe der Tür, weit von den Entwickelungs- gefäßen entfernt	{ an Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
II. Auf einem Tische beim Fenster	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
III. In einem offenen Kasten	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
IV. In einem Kasten, halbgeöffnet, hin- ter der zugelehnten Tür	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
V. In einer halbaufge- zogenen Schub- lade, rückwärtiger Teil	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
VI. Nahe der Zimmer- decke	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
VII. In der Tasche eines Mantels	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	++
		---	---	---	---	+
VIII. Auf einer Stellage	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
IX. Nahe der Decke, be- deckt von einem doppelten Hand- tuch	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---
X. Unter einem Tisch	{ " Seide " Leinw.	---	---	---	---	---
		---	---	---	---	---

feuchte Beschaffenheit der letzteren den Formaldehyd anzieht, der zum Wasser eine große Affinität besitzt. Darauf beruht eben die ganze Oberflächendesinfektion.

Wir benutzen hierzu nach Peeren booms Vorgang die Methode von Romijn (29), die kurz darauf beruht, daß der Formaldehyd aus einer Jodlösung 2 Atome Jod aufnimmt, nachdem die Lösung durch Zusatz von Natronlauge alkalisch gemacht ist. Peerenboom, der mit den Scheringschen Pastillen desinfizierte, die er im Scheringschen Desinfektor zur Verdampfung brachte, fand in der ersten $\frac{1}{4}$ Stunde 0,25 g Formaldehyd im Kubikmeter, nach ungefähr 2 Stunden nur mehr 0,17 g, nach ca. 20 Stunden 0,07 g. Wir erhielten nach denselben Zeiten 0,35, 0,16 und 0,04 g. Nur die erste Ziffer ist etwas höher; wohl deshalb, weil wir überhaupt mit größeren Mengen arbeiteten und weil die Entwicklung der gesamten Formaldehydmenge in viel kürzerer Zeit erfolgt. Die Einzelheiten des Verfahrens sind in den Arbeiten der genannten Autoren vorhanden.

Es ergibt sich also auch auf diesem Wege die Gleichwertigkeit unserer Methode mit den Apparatverfahren.

Es erhob sich nur noch die Frage, ob die Abdichtung des Raumes wirklich notwendig sei. Wie beim Autan erfolgt ja auch hier die Entwicklung der gesamten zur Desinfektion erforderlichen Menge von Formaldehyd und Wasserdampf binnen weniger Minuten, so daß nicht zu befürchten ist, daß die Konzentration infolge Entweichens der desinfizierenden Dämpfe die für die Keimabtötung nötige Grenze nicht erreichen könnte. Bei den Apparaten dauert es bekanntlich $\frac{3}{4}$ bis 1 Stunde, bis sich wirksame Mengen von Formaldehyd und Wasserdampf in der Luft des betreffenden Lokales ansammeln; kann der Dampf während dieser Zeit ausgiebig entweichen, so ist der ganze Erfolg in Frage gestellt. Die experimentellen Resultate mit den verschiedenen Apparatsystemen hängen auch in erster Linie von der Sorgfalt ab, mit welcher die zu desinfizierende Lokalität abgedichtet wurde und erklärt sich hieraus die Tatsache, daß unter sonst gleichen Verhältnissen verschiedene Autoren zu sehr divergenten Urteilen über die Brauchbarkeit desselben Apparates gelangten; die Formalinliteratur liefert ja zahlreiche Beweise dafür.

Das ist jedoch für die Praxis recht mißlich. Wenn die exakte Abdichtung des Raumes schon dem geschulten Fachmanne Schwierigkeiten macht und wenn sie nicht einmal im Laboratorium so gehandhabt werden kann, daß der Erfolg dadurch nicht wesentlich alteriert wird, so müssen

IV. Versuch.

Völlig analog No. III. Dasselbe Zimmer, nicht abgedichtet, innere Fensterflügel geöffnet, äußere geschlossen. Türen zugeklinkt, Ofen nur durch Einlegen eines Papierblattes zwischen Tür und Öffnung versichert. Temperatur 20° C.

Art und Ort der Exposition		Typhusbacillen		Staphylokokken		Anthrax	
		offen	in Papier	offen	in Papier	offen	in Papier
I. Auf dem Boden	{ an Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	— +	—	---	—
II. Auf einem Tisch	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	+	— +	—
III. In einem offenen Kasten	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	— +	—	---	—
IV. Halbgeöffn. Kasten, hinter der zugemachten Tür	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	+	---	—
V. Halbaufgezogene Schublade	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
VI. Nahe der Zimmerdecke	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	— +	—	---	—
VII. Manteltasche	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
VIII. Stellage	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
IX. Nahe der Decke, vom Handtuche bedeckt	{ „ Seide	---	—	---	—	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
X. Unter dem Tisch	{ „ Seide	---	—	---	+	---	—
	{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—

sich in der Wirklichkeit noch viel mehr negative Resultate, d. h. mangelhafte Desinfektionen ergeben. Daß die Abdichtung auch eine zeitraubende Komplikation der Wohnungsdesinfektion darstellt, bedarf keiner Erörterung.

Wir haben daher die Abdichtung bei einem Teil unserer Versuche ausgeschaltet und sind von den Ergebnissen im allgemeinen befriedigt. Dasselbe berichten ja auch viele Autoren über das Autan, welches die stürmische Entwicklung des Desinficiens mit unserer Methode gemein hat. Daß sich beim Autan auch gegenteilige Stimmen vernehmen ließen, findet seine Erklärung in anderen Momenten, vorwiegend in der ungleichen Qualität des Präparates.

Von 120 Testobjekten waren 113 = 94 Proz. steril. Diesen Erfolg hatten wir auch bei ähnlichen Versuchen in anderen Lokalitäten.

Man braucht also nicht abzudichten, d. h. Türen und Fenster nicht zu verkleben, was für gewisse Verhältnisse sehr wertvoll sein kann, insbesondere, wo Aerzte und Desinfektoren fehlen, wo also die Durchführung der Desinfektion Laien überantwortet werden muß oder im Feld und Manöver, wo es an Zeit für die sorgfältige Herrichtung der Räume gebricht.

Die Evans-Russelsche Methode resp. die von uns gefundene Modifikation läßt sich natürlich auch in allen möglichen kleineren Räumen anwenden, wie in Eisenbahnwaggons, Kranken- und Leichenwagen, verschiedenen Behältnissen, wie Kisten, Schränken u. s. f., in welchen man Kleider, Pelzwerk, Ledersachen etc. zur Desinfektion aufhängen kann. In solchen Fällen wird man die Mengen der Reagentien erhöhen, weil der Preis bei den erforderlichen kleinen Quantitäten weniger in Betracht kommt.

V. Versuch.

Kleiderkasten von 2 cbm Inhalt, mit Papierstreifen abgedichtet. 60 g Kaliumpermanganat + 120 ccm zur Hälfte verdünnten Formalins. Einwirkungsdauer 6 Stunden.

Testobjekte		offen	in Papier	in der Tasche einer Militärbluse
Pyocyaneus	{ an Seide	-----	—	—
	{ „ Leinwand	-----		
Typhusbacillen	{ „ Seide	-----	—	—
	{ „ Leinwand	-----		
Staphylokokken	{ „ Seide	-----	—	+
	{ „ Leinwand	-----		
Anthraxsporen	{ „ Seide	-----	—	— +
	{ „ Leinwand	-----		

Von 27 Objekten 25 = 93 Proz. abgetötet. Außerdem wurde ein Stück vom Futter der Bluse und 2 Stücke (ca. 1 qcm groß) des Blusenstoffes untersucht, welche sehr reichliche, bei Bruttemperatur wachsende, zum Teil sporenbildende Keime enthielten. Nach der Desinfektion war die Probe aus dem Futter und eine aus dem Blusentuch steril, die zweite zeigte nach 3 Tagen Wachstum (*Mesentericus*).

Auch zur Desinfektion von Kathetern eignet sich das Verfahren. Man braucht dieselben oder ähnliche Instrumente (Cystoskope, Lithothriptoren, Gummiwaren) nur in einem mit gut schließendem Deckel versehenen Glasgefäß, auf dessen Boden man 5–10 g KMnO_4 mit 5–10 ccm aufs Doppelte verdünnten Formalins zur Reaktion bringt, in geeigneter

Weise aufzuhängen. Die Abdichtung des Deckels kann durch Vaseline erfolgen. Für diese Zwecke käme allerdings auch das Autan in Betracht, weil der Preis hier keine Rolle spielt. Wir möchten aber auch hier unserer Methode den Vorzug geben wegen ihrer größeren Sicherheit und weil Autan nicht überall zu haben ist, KMnO_4 und Formalin dagegen in jeder Apotheke oder Drogerie.

Kriegsmethode.

Im Kriege ist das Mitführen von flüssigem Formalin, daher auch das Evans-Russelsche Verfahren unmöglich. Doch gelang es auch hier einen Ausweg zu finden. Die moderne Industrie erzeugt durch Zusatz geringer Seifenmengen zu Formalin feste, in Metallbüchsen konservierbare Präparate von sehr hohem Formaldehydgehalt. Die Masse hat das Aussehen und die Konsistenz von Schweineschmalz und reagiert, mit Wasser übergossen und KMnO_4 versetzt, so wie flüssiges Formalin. Die Mengenverhältnisse von KMnO_4 , Formalinseife und Wasser sind dieselben wie oben, d. h. 2 kg von jedem Körper pro 100 cbm Rauminhalt. Wir verwendeten zu unseren Versuchen das sogenannte „Festoform“, welches von der betreffenden Firma (Festoformgesellschaft, Berlin W. 30) zu anderen Zwecken empfohlen und zur Prüfung dem Reichskriegsministerium in größeren Quantitäten zur Verfügung gestellt war.

VI. Versuch.

Zimmer von 150 cbm; Anordnung der Objekte wie in den früheren Versuchen (No. III und IV). Nicht abgedichtet. 3 kg KMnO_4 + 3 kg Festoform + 3 kg Wasser in einem großen Fasse zur Reaktion gebracht. Temperatur 20° C. Einwirkungsdauer 6 Stunden.

Art und Ort der Exposition	Typhusbacillen		Staphylokokken		Anthraxsporen	
	offen	in Papier	offen	in Papier	offen	in Papier
I. Auf dem Boden { an Seide	---	—	---	—	---	—
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	+
II. Auf einem Tisch { „ Seide	---	—	---	—	---	—
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
III. Offener Kasten { „ Seide	---	—	---	—	---	—
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
IV. Halboffener Kasten { „ Seide	---	—	---	—	---	—
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
V. Halboffene Schub- { „ Seide	---	—	---	—	---	—
lade { „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
VI. Nahe der Zimmer- { „ Seide	---	—	---	—	---	—
decke { „ Leinwand	---	—	---	—	— +	—
VII. Manteltasche { „ Seide	---	—	---	—	---	+
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	+
VIII. Stollage { „ Seide	---	—	---	—	---	—
{ „ Leinwand	---	—	---	—	---	—
IX. Von Handtüchern { „ Seide	---	—	---	—	---	—
bedeckt { „ Leinwand	---	—	---	—	---	—

Von 114 Proben waren 110 abgetötet = 96 Proz. In einem zweiten Versuch (Zimmer von 75 cbm) waren 97 Proz. der Objekte steril.

Die Festoformmethode ist nicht viel teurer als unser Verfahren mit flüssigem Formalin, ein Umstand, der übrigens für den Krieg weniger ins Gewicht fiel. Sie ist außerordentlich einfach; man braucht zum Festoform nur so viel Wasser hinzuzufügen, als die Büchse faßt; nur das KMnO_4 muß abgewogen werden, wozu man nicht einmal Gewichte benötigt, da jede Festoformdose etwa 1 kg wiegt. Der Transport macht keine größeren Umstände als der von Konservenbüchsen und lassen sich größere Mengen auf kleinen Räumen leicht zusammendrängen. Der Formaldehydgehalt müßte den Heeresverwaltungen von der Firma garantiert und durch Untersuchung von Stichproben festgestellt werden. Unsere Proben enthielten auf 24,5 g nur 1,5 g Trockenrückstand = 6 Proz. Seife. Der Rest bestand aus Formaldehyd und Wasser.

Wir behalten uns vor, auf diese neue Kriegsmethode der Desinfektion in einer Fachzeitschrift nochmals zurückzukommen und wollen nur noch hervorheben, daß festes Paraform mit Wasser und KMnO_4 nicht reagiert.

Er dürfte nach allem klar sein, daß das Evans-Russelsche Verfahren eine wertvolle Bereicherung und Ergänzung unserer bisherigen Desinfektionspraxis darstellt, weil es

1) in Verhältnissen anwendbar erscheint, wo Apparate nicht vorhanden sind;

2) keine Feuersgefahr involviert;

3) keine Abdichtung der Räume benötigt;

4) relativ billig ist;

5) auch Laien überlassen werden kann;

6) in der von uns vorgeschlagenen Modifikation dasselbe leistet wie die anderen, als sicher anerkannten Systeme und auch allen theoretischen Postulaten einer ausreichenden Formalinwirkung genügt;

7) weil die Mengenverhältnisse (2 kg KMnO_4 + 2 Formalin + 2 Wasser pro 100 cbm) einfach, leicht zu behalten sind und alle Tabellen etc. ersparen;

8) auch militärischen Forderungen (Krieg, Manöver) durch den Ersatz des Formalins durch Festoform gerecht wird.

Vielleicht wird die Methode im stande sein, der Wohnungsdesinfektion in weiteren Kreisen Eingang zu verschaffen, als dies bis jetzt der Fall war.

Wien, im Juli 1907.

Literatur.

- 1) Doerr u. Raubitschek, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 24.
- 2) Evans u. Russel, Hygienies Laboratories. Washington 1906. Hyg. génér. et appliqu. 1907. Avril.
- 3) Flüge, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXIX.
- 4) Proskauer, Festschr. zum 60. Geburtstage v. Robert Koch.
- 5) Praussnitz, Münch. med. Wochenschr. 1899.
- 6) Czaplewski, Münch. med. Wochenschr. 1898.
- 7) Lingner, Münch. med. Wochenschr. 1898.
- 8) Kamen, Prophylaxe und Bekämpfung der Infektionskrankheiten. Wien 1906.
- 9) Tomarkin u. Heller, Dtsche med. Wochenschr. 1907. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1907.
- 10) Pfuhl, Dtsche militärärztl. Zeitschr. 1899.
- 11) Krell, Patentschr. 97 500.
- 12) Dieudonné, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XI. Münch. med. Wochenschrift. 1900.
- 13) Reischauer, Hyg. Rundschau. 1900.
- 14) Steinitz, Zeitschr. f. Hyg. 1905.

- 15) Springfield, Zeitschr. f. Polizei- u. Verwaltungsbeamte. 1901.
- 16) Eichengrün, Zeitschr. f. angew. Chemie. Bd. IX. 1906.
- 17) Hammerl, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 23.
- 18) Christian, Hyg. Rundschau. 1907.
- 19) Wesenberg, Hyg. Rundschau. 1906.
- 20) Selter, Münch. med. Wochenschr. 1906.
- 21) Nietner, Hyg. Rundschau. 1907. No. 3.
- 22) Kolle, Ueber Wohnungsdesinfektion. Bern 1907.
- 23) Carbonel y Soles, Arch. de Ginecopatia. 1906. No. 22.
- 24) Lemaire, Gaz. méd. belge. 1907. No. 18. Mouvement hygiénique. 1907. No. 12.
- 25) Sternberg, Hyg. Rundschau. 1907. (Im Druck.)
- 26) Kirstein, Zeitschr. f. Medizinalbeamte. 1907.
- 27) Xylander, Arb. a. d. kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. XXVI. 1907.
- 28) Peerenboom, Hyg. Rundschau. 1898.
- 29) Romijn, Zeitschr. f. analyt. Chemie. 1897. Heft 1.
- 30) Base, The Journ. of the Americ. chem. soc. Vol. XXVIII. 1906. No. 8. Ref. Hyg. Centralbl. 1907.

Nachdruck verboten.

Ein vereinfachter Thermostat.

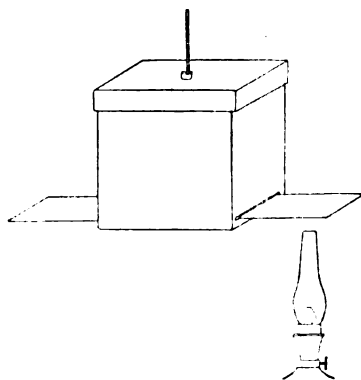
Von A. Sineff,

Prosektorgehilfe am städtischen Krankenhause zu Odessa.

Mit 1 Figur.

In Fällen, wo dem Arzte ein kleines Laboratorium für klinische Untersuchungen zur Verfügung steht, ist es sehr erwünscht, unter anderen Vorrichtungen auch einen kleinen und billigen Thermostaten zu haben.

Ich erlaube mir deshalb, hier einen kleinen, von mir konstruierten Thermostaten zu beschreiben, welcher gut arbeitet und billig und leicht ausführbar ist, weil man das nötige Material dazu überall finden kann. Zur Konstruktion braucht man dicke Pappe oder dünnes Kastenholz, dann ein Stück Dach- oder Kesselblech, eine Petroleumlampe und ein Thermometer. Aus der Zeichnung ist leicht zu erkennen, wie ein solcher Thermostat gebaut sein muß. Aus der Pappe wird ein fester Kasten mit einem abnehmbaren Deckel gemacht. Durch den Deckel und einen Kork steckt man ein Thermometer in das Innere dieses Kastens. Zwei parallelstehende Wände haben unweit vom Boden je eine Spalte, welche fast so lang ist wie die Wand. Durch diese Spalten wird ein Streifen Kesselblech oder dreifaches Dachblech gezogen. An der Seite des Kastens wird unter den Streifen eine Petroleumlampe gestellt. Natürlich muß man dazu auch ein entsprechendes Untergestell haben. Für mich persönlich habe ich zwei solche Thermostaten gemacht. Das eine mißt $20 \times 20 \times 20$ cm, das andere $30 \times 20 \times 20$ cm, beide mit einem Eisenstreifen von 18×50 cm; sie arbeiten sehr gut. Die Feststellung der Temperatur auf der nötigen Höhe mit einer Genauigkeit bis $0,5^\circ$ ist sehr leicht. Man kann die Flamme entweder vergrößern oder ver-



kleinern, die Lampe näher oder weiter stellen. Man braucht ungefähr 15–20 Minuten zur Regulierung der Temperatur und letztere bleibt dann dauernd auf der erwünschten Höhe. Natürlich ist ein solcher Thermostat von der Lufttemperatur sehr abhängig. Im Winter muß die Lampe näher zum Thermostaten gestellt werden und auch stärker brennen, dagegen im Sommer weiter und schwächer.

In Fällen, wo ein „echter“ (wenn man hier überhaupt das Wort gebrauchen kann) Thermostat nicht vorhanden ist, wird dieser Apparat sich als genügend erweisen.

Zum Schluß erlaube ich mir zu bemerken, daß der Gedanke, einen Eisenstreifen mit seitlicher Anwärmung zum Thermostaten zu verwenden, nicht von mir ist; er ist Gabritschewsky entnommen ¹⁾.

Der erste Versuch in meiner Veränderung war sehr günstig. Demnach erlaube ich mir, die Konstruktion dieses Thermostaten zu beschreiben in der Hoffnung, daß er Anwendung finden kann.

Juni 1907.

1) Gabritschewsky, Die Beschreibung des polythermalen Streifens. (Handbuch der med. Bakteriologie.)

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

- | | |
|---|--|
| <p>Bäcker, St., Bakteriolytisches Serum gegen Vibrionen ohne bakteriotrope Wirkung, p. 166.</p> <p>Doerr, R. und Raubitschek, H., Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege. (Schluß), p. 179.</p> <p>Eisenberg, Philipp, Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre. I. (Schluß), p. 134.</p> <p>Ernst, Wilhelm, Die Entstehung der Botryomycesrasen aus der Staphylokokkenform des Erregers, p. 121.</p> <p>Hinterberger, A., Bemerkungen zu der Frage, ob Bacillus anthracis Geißeln bildet und Hüllen hat, p. 108.</p> <p>Klodnitsky, N. N., Ueber die Vermehrung der Rückfallspirochäten im Körper der Wanzen, p. 126.</p> | <p>Markl, Ueber die Antikörper des Meningococcus. II., p. 175.</p> <p>Pettersson, Alfred, Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Leukocyten für die Immunität, p. 160.</p> <p>Pitt, W., Beiträge zum regelmäßigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und in den Tonsillen gesunder Schweine. (Schluß), p. 111.</p> <p>Rodhain, J., Note sur quelques trypanosomes de grenouilles et de poissons dans l'Ubangi, p. 129.</p> <p>Sineff, A., Ein vereinfachter Thermostat, p. 191.</p> <p>Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé, p. 97.</p> |
|---|--|

Nachdruck verboten.

Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé.

[Institut d'hygiène et de parasitologie de l'Université de Lausanne.
Prof. B. Galli-Valerio.]

Par le Dr. **Vourloud.**

(Schluß.)

Bact. Hog cholera.

Il n'a pas donné la moindre trace de gaz. Le milieu a rougi avec: glycérine, arabinose, rhamnose, mannite, dulcite, sorbite, glycose, lévulose, galactose, maltose, adonite, amygdaline; les deux derniers ont repris peu à peu leur couleur primitive. La xylose s'est décolorée, puis est redevenue bleue. Pas de changement: érythrite, salicine, saccharose, lactose, raffinose, dextrine et inuline.

D'après Lehmann et Neumann¹⁾ le Bact. Hog cholera ne donne ni gaz, ni acide avec la lactose; il produit au contraire du gaz en bouillon glycosé et fait également fermenter dextrine, dulcite, lévulose, maltose, mannite.

Dorsch, cité par Lehmann et Neumann, a décrit une forme qui ne fait pas fermenter la glycose.

Voges et Proskauer²⁾ disent que le Bact. Hog cholera fait fermenter glycose, lévulose, maltose, dextrine, glycérine, dulcite, mannite; il ne donne pas de gaz avec saccharose, lactose, raffinose et adonite.

Pour Silberschmidt³⁾, le Hog cholera donne en bouillon glycosé gaz et acide en présence du carbonate de chaux.

Smith⁴⁾ dit que le Hog cholera donne avec glycose gaz et acide; ni l'un, ni l'autre avec saccharose et lactose.

D'après MacConkey⁵⁾, 2 types du Hog cholera ont donné l'un et l'autre gaz et acide avec glycose, lévulose, maltose, galactose, mannite, sorbite et dextrine; pas de gaz, mais de l'acide, avec arabinose, raffinose, dulcite; ni gaz, ni acide avec lactose et saccharose.

Enfin suivant Ducamp⁶⁾, le Hog cholera fait fermenter arabinose, mannite, sorbite, glycose, lévulose, galactose, maltose, xylose, dulcite, mannose, mais deux types du Hog cholera sont restés sans action sur les 3 derniers sucres.

Lait tournesolé.

Le Bact. Hog cholera n'a pas coagulé le lait qui est resté bleuâtre avec léger dépôt jaunâtre.

Boycott⁷⁾ dit qu'il y a au début une légère acidité suivie, à un intervalle de 2 à 14 jours, d'une alcalinité qui s'accroît.

1) Loc. cit. p. 278.

2) Zeitschr. f. Hyg. Vol. XXVIII. 1898. p. 29.

3) Annales de l'Institut Pasteur. Vol. IX. 1895. p. 65.

4) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894. p. 232.

5) Loc. cit. p. 350.

6) Loc. cit. p. 522.

7) Loc. cit. p. 40.

Bact. avicidum (cholerae gallinarum).

Il n'a pas donné trace de gaz. Le milieu a rougi avec six sucres: mannite, sorbite (redevenu bleu), glycose, lévulose (la surface est restée bleue), amygdaline et saccharose.

Les autres sucres sont sans changement.

D'après Lehmann et Neumann¹⁾, le bacille ne donne pas de gaz, mais souvent beaucoup d'acide avec la glycose et la lactose.

Suivant Karlinski²⁾, il y a, d'une façon très-inconstante, une faible production de gaz en glycose.

Lait tournesolé.

Le Bact. avicidum n'a pas coagulé le lait qui est resté lilas: gouttelettes graisseuses à la surface.

D'après Lignières le lait ne serait jamais coagulé (Macé, p. 889).

Une culture de Berlin laissait le lait alcalin et non-coagulé; une de Fränkel au contraire coagulait avec réaction acide (Lehmann et Neumann, p. 224 et 227).

Bact. pseudotuberculosis rodentium.**25 de la série.**

Aucune trace de gaz. Le milieu est devenu rouge ou rougeâtre: glycérine, adonite, arabinose, xylose, rhamnose, mannite, sorbite, glycose, lévulose, galactose (redevenu bleu), salicine, saccharose, lactose, maltose, raffinose (les 4 derniers sont redevenus bleuâtres), dextrine.

Sans changement: érythrite, dulcité et inuline.

26 de la série.

Aucune trace de gaz. Le 26 est en tous points semblable au 25 sauf érythrite qui a rougi; galactose et raffinose seulement sont redevenus bleuâtres.

D'après Lehmann et Neumann³⁾ le Bact. pseudotuberculosis rodentium ne donne pas non plus de gaz.

Selon MacConkey⁴⁾, il donne de l'acide avec glycose, lévulose, maltose, galactose, mannite et dextrine.

Lait tournesolé.

Le Bact. pseudotuberculosis rodentium n'a pas coagulé le lait. Le 25 est devenu violet-bleu, puis franchement bleu; ensemencé le 29 décembre 1906, le 18 avril 1907 il est bleu en surface puis décoloré progressivement du haut en bas; dépôt grisâtre. Le 26 est brun-rougeâtre, plus rouge au fond du tube; le 18 avril 1907, il est brun-jaunâtre.

Suivant Lehmann et Neumann le lait n'est pas coagulé.

Pour Galli-Valerio le lait est coagulé et c'est un caractère qui différencie le Bact. pseudotuberculosis rodentium du Bact. pestis⁵⁾.

Dans un 1^{er} travail⁶⁾, cet auteur s'exprime comme suit: „dans le lait à 37°, seulement après 8 jours, on notait la formation d'un coagulum à petits flocons. Après 18 jours, la coagulation était complète.“

L'un des deux bacilles expérimentés provenait du Bact. pseudotuberculosis rodentium isolé par M. Galli-Valerio et qui

1) Loc. cit. p. 225.

2) Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII. 1898. p. 377.

3) Loc. cit. p. 229.

4) Loc. cit. p. 350.

5) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 330.

6) Archives de parasitologie. 1901. p. 294.

primitivement coagulait le lait. Il a donc perdu cette propriété au cours des cultures successives.

Bact. pseudo-pestis.

Le développement a été faible et lent. Pas trace de gaz. Deux 1^{ères} cultures ont été faites et, au bout de 10 jours, l'arabinose et la glycose ont rougi. D'une 3^{me} culture, l'arabinose et la glycose sont également devenues rouges, la xylose faiblement rougeâtre.

Lait tournesolé.

Le Bact. pseudo-pestis n'a pas coagulé le lait qui est devenu brun-clair; dépôt grisâtre de $\frac{1}{2}$ cm d'épaisseur.

Bact. pestis.

Aucune trace de gaz. Le milieu est devenu rouge ou rougeâtre avec: glycérine, arabinose, xylose, mannite, glycose, lévulose, galactose, salicine, saccharose (redevenu bleuâtre), lactose, maltose.

Sans changement: érythrite, adonite, rhamnose, dulcite, sorbite, amygdaline, raffinose, dextrine, inuline.

D'après MacConkey¹⁾, le Bact. pestis produit de l'acide avec glycose, lévulose, maltose, galactose, mannite, dextrine; il n'y a pas de changement avec raffinose, lactose, saccharose, sorbite, dulcite.

A l'exception de la lactose et de la saccharose, les résultats donnés par le bacille expérimenté concordent avec ceux de MacConkey; encore doit-on faire remarquer que la saccharose est redevendue bleuâtre.

Lait tournesolé.

Le Bact. pestis n'a pas coagulé le lait. Aucun changement appréciable n'a été noté.

Bact. pneumoniae.

Aucune trace de gaz. Sont devenus rougeâtres, rouges et très-rouges: glycérine, adonite, arabinose, xylose, rhamnose, mannite, sorbite, galactose, saccharose, maltose, raffinose, glycose, lévulose, salicine.

Sans changement: érythrite, dulcite, amygdaline, lactose, inuline.

D'après Lehmann et Neumann²⁾, le Bact. pneumoniae fait fermenter la glycose et la lactose.

Grimbert³⁾, qui s'est beaucoup occupé du sujet, dit que le Friedländer fait fermenter glycose, saccharose, lactose, maltose, raffinose, dextrine, mannite, arabinose, galactose, glycérine et dulcite, d'où une 1^{ère} classe de pneumobacilles qui font fermenter tous ces sucres, et une 2^e classe qui, de la liste précédente, laisse indemne la dulcite.

Suivant Frankland, Stanley et Frew, cités par Grimberty, le Friedländer ne fait fermenter ni la glycérine, ni la dulcite.

Abel⁴⁾ donne l'opinion de Wilde, Clairmont et Paltauf. Selon ces auteurs, le Bact. pneumoniae fait fermenter la glycose, ce qui n'est pas le cas du Bact. rhinoscleromatis; mais Strong a trouvé un rhinosclérome qui fermentait et Clairmont un Friedländer qui ne fermentait pas.

Pour MacConkey⁵⁾, le Friedländer donne acide et gaz avec

1) Loc. cit. p. 350.

2) Loc. cit. p. 246.

3) Annales de l'Inst. Past. Vol. IX. 1895. p. 840; Vol. X. p. 715.

4) Dans Kolle et Wassermann, Handb. der pathog. Mikroorg. Bd. III. p. 870.

5) Loc. cit. p. 350.

glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, raffinose, saccharose, mannite, sorbite, dulcité, dextrine; il produit de l'acide seulement avec la lactose.

Le *Bact. pneumoniae* expérimenté n'a pas donné de gaz, ce qui est donc en contradiction avec les résultats généralement admis. Mais Denys et Martin¹⁾ disent que, cultivé pendant 11 mois sur gélatine, le Friedländer perd la propriété de donner du gaz avec la glycose et la lactose. En est-il de même avec les autres sucres et d'autres milieux? c'est possible. Le bacille qui a servi à l'expérimentation était originaire de la collection Král, mais cultivé au laboratoire de M. Galli-Valerio depuis plusieurs années.

Lait tournesolé.

Le *Bact. pneumoniae* n'a pas coagulé le lait qui est resté violet-rougeâtre.

„Après 20 jours le lait n'est pas coagulé. Abel n'a pas non plus constaté de coagulation. Au contraire, Löwenberg, Denys et Martin disent que le lait est coagulé.“ (Lehmann et Neumann, p. 246 et 250).

„La coagulation est lente et peut ne pas s'observer, même après un long temps.“ (Macé, p. 856.)

Bact. rhinoscleromatis.

Aucune trace de gaz. Le *Bact. rhinoscleromatis* s'est comporté tout-à-fait comme le *Bact. pneumoniae* à l'exception de la maltose qui est demeurée sans changement.

Contrairement à ce qui précède, le bacille du rhinosclérome est généralement producteur de gaz. Le type expérimenté avait donné une légère fermentation de la lactose à M. Galli-Valerio²⁾ lorsqu'il l'a isolé.

Lait tournesolé.

Le *Bact. rhinoscleromatis* n'a pas coagulé le lait qui est devenu lilas avec des gouttelettes graisseuses à la surface.

Pour Paltauf le lait est coagulé; pour Abel, il ne l'est pas. (Lehmann et Neumann, p. 249.)

Bact. ozaenae.

Le *Bact. ozaenae* n'a pas donné de gaz. Le milieu est devenu rouge avec: glycérine, adonite (de nouveau bleuâtre au bout de 8 jours) arabinose, mannite, sorbite, glycose, lévulose, galactose, salicine, saccharose, maltose, raffinose.

Aucun changement avec: érythrite, xylose, rhamnose, dulcité, amygdaline, lactose, dextrine et inuline.

D'après Lehmann et Neumann³⁾, le bacille fait fermenter la glycose, tantôt fortement, tantôt faiblement.

Macé⁴⁾ dit que le bacille de l'ozène fait fermenter glycose, dextrine, mannite, galactose, arabinose, maltose, lactose, saccharose, lévulose, xylose; il n'a d'action ni sur la dulcité, ni sur l'inuline.

Ainsi donc comme le Friedländer et le rhinosclérome, le bacille de l'ozène n'a pas non plus donné de gaz.

Le type expérimenté venait récemment de la collection Král.

1) Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XVI. 1894. p. 27.

2) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. 1906. p. 646.

3) Loc. cit. p. 248.

4) Loc. cit. p. 981.

Lait tournesolé.

Le *Bact. ozaenae* n'a pas coagulé le lait qui est demeuré bleuâtre avec léger dépôt jaunâtre.

Il n'y a jamais de coagulation, disent Lehmann et Neumann, p. 248).

„Le développement est peu abondant, l'aspect du milieu ne change pas d'après Löwenberg. D'après Robineau, au contraire, le développement est abondant et le lait coagulé assez fortement.“ (Mace, p. 981.)

Bact. vulgare.

Le *Bact. vulgare* est un fermentateur. Le milieu devient rouge ou rougeâtre, puis il se décolore plus ou moins avec un certain nombre de sucres; assez souvent, dans l'intervalle de 2 à 10 jours, il redevient bleu ou bleuâtre.

Voici du reste les résultats des cultures faites avec les deux types expérimentés. La quantité de gaz produite est appréciée avec les mêmes signes que pour le coli; r = milieu rouge.

	32 de la série	33 de la série
Glycérine	pas de gaz; r	...; r, un peu décoloré
Erythrite	...; r, puis redevient bleu	...; r, redevient bleuâtre
Adonite	...; r, redevient bleu	...; r, décoloré, redevient bleuâtre
Arabinose	pas de gaz; r, redevient bleuâtre	=; r, " " "
Xylose	=; r	=; r
Rhamnose	=; r, redevient bleu	=; r, et décoloré
Mannite	=; r,	...; r, redevient bleuâtre
Dulcite	...; r, redevient bleuâtre	...; r
Sorbit	=; r	pas de gaz; r et décoloré
Glycose	+; r, et décoloré	+; r
Lévilose	+; r, décoloré, redevient bleuâtre	+; r, décoloré, redevient bleuâtre
Galactose	=; r	=; r
Amygdaline	—	...; r, décoloré, redevient bleuâtre
Salicine	=; r, et décoloré	...; r, et décoloré
Saccharose	=; r	=; r
Lactose	=; r, redevient bleuâtre	=; r, redevient bleuâtre
Maltose	=; r	=; r, " "
Raffinose	=; r	=; r, décoloré
Dextrine	...; r	=; r,
Inuline	—	pas de gaz; r, décoloré

D'après Th. Smith, cité par Lehmann et Neumann¹⁾, le *Bact. vulgare* produit beaucoup de gaz en glycose, davantage avec la saccharose; il est sans action sur la lactose.

Weber (thèse de Strassburg), également cité par Lehmann et Neumann²⁾ décrit trois types de *Proteus*; l'un d'eux ne fait pas fermenter la saccharose, mais bien la glycose; un autre ne fait fermenter ni la glycose, ni la saccharose.

Suivant Mac Conkey, le *Proteus* produit gaz et acide avec glycose, maltose, galactose, saccharose; pas de changement avec la sorbite et la dulcite.

Lait tournesolé.

Le *Bact. vulgare* a coagulé le lait du 1^{er} au 2^{me} jour; celui-ci est redevenu liquide, de coloration jaunâtre, brunâtre, rougeâtre en surface; fond du tube décoloré, dépôt blanchâtre.

1) Loc. cit. p. 325. 328.

2) Loc. cit. p. 350.

„Le lait est coagulé en 2 ou 3 jours, puis il se liquéfie de nouveau; la coloration devient jaunâtre, la réaction faiblement acide.“ (Lehmann et Neumann, p. 328.)

„Le lait est coagulé au bout de 24 heures et se redissout; le liquide est brunâtre, fortement alcalin et dégage une odeur putride.“ (Mace, p. 1065.)

Bact. pyocyaneum.

Les deux pyocyaniques expérimentés se sont comportés d'une façon semblable. Ils n'ont pas donné de gaz. La caractéristique des cultures est la décoloration du milieu avec la plupart des sucres chez lesquels un changement s'est produit. Cette décoloration apparaît d'emblée, puis le milieu reprend couleur, rouge persistant ou bleuâtre, après une dizaine de jours. — Voici un résumé des cultures.

	Pyocyaniques	
	du pus	de maladie pyocyanique
Glycérine	décoloré; rougeâtre	décoloré; rougeâtre à violet
Arabinose	décoloré; bleuâtre	décoloré; rouge
Xylose	décoloré; rouge	décoloré; rouge très-clair
Lévilose	décoloré; bleu	un peu décoloré; bleuâtre
Galactose	rouge à rouge-clair	rougeâtissant à rouge
Saccharose	un peu rouge; bleuâtre	rougeâtre à bleuâtre
Dextrine	rouge à rouge-foncé	rougeâtre; bleuâtre

Aucun changement avec: érithrithrite, adonite, rhamnase, mannite, dulcité, sorbite, glycose, amygdaline, salicine, lactose, maltose, raffinose, inuline.

Quels rôles peuvent bien jouer la fluorescine et la pyocyanine dans ces phénomènes de décoloration et de recoloration des cultures? c'est une question à résoudre.

D'après Lehmann et Neumann¹⁾ le pyocyanique ne donne ni gaz, ni acide avec la glycose.

Suivant Macé²⁾, „l'action du pyocyanique sur les matières sucrées est peu connue. Le microbe doit les attaquer en produisant de l'acide carbonique et de l'alcool“.

Lait tournesolé.

Le pyocyanique a coagulé le lait, mais au fond du tube seulement. Au-dessus, c'est un liquide violet-rougeâtre, puis brun-jaunâtre; peu à peu il se décolore dans la partie inférieure du tube.

Le lait est coagulé, plus tard de nouveau liquéfié; zone de liquéfaction fluorescente, vert-jaunâtre; réaction toujours alcaline (Lehmann et Neumann, p. 312).

„Le pyocyanique précipite la caséine, puis la dissout; en même temps il se dégage de l'ammoniaque et la masse devient fortement alcaline. Le liquide prend une teinte verdâtre.“ (Macé, p. 948.)

Bac. botulinus.

Les tubes ensemencés ont été placés dans un appareil de Novy avec une solution de potasse caustique et d'acide pyrogallique; en outre, le vide a été fait au moyen d'une pompe à eau. L'appareil a été placé à l'étuve et les tubes examinés 5 jours plus tard.

1) Loc. cit. p. 313.

2) Loc. cit. p. 950.

Tous ont présenté du gaz en quantité plus ou moins grande. Le milieu était décoloré dans tous les tubes; seule la surface gardait une couche rouge variant de $\frac{1}{8}$ à $\frac{1}{10}$ de la hauteur totale du milieu. La quantité de gaz produite a été appréciée comme suit:

quantité très-grande: glycérine, érythrite, raffinose, sorbite;
 " grande: mannite, lactose, adonite, arabinose, galactose, salicine, dulcité, inuline;
 " moyenne: maltose, amygdaline, saccharose, glycose;
 " petite: lévulose, dextrine;
 " traces: xylose, rhamnose.

A noter la glycose inscrite avec les sucres moyennement fermentés tandis que l'on s'accorde à reconnaître la quantité énorme de gaz produit dans les milieux glycosés.

En tout cas, le bacille expérimenté a donné du gaz partout, même avec la lactose (grande quantité) et la saccharose (moyenne quantité), sucres que l'on dit peu attaqués (Lehmann et Neumann).

Lait tournesolé.

Le Bac. botulinus n'a pas coagulé le lait. Liquide brun-clair dans les $\frac{2}{3}$ inférieurs du tube, rouge dans le tiers supérieur. Deux mois après l'ensemencement, le lait était complètement rouge.

"Le lait ne change pas d'aspect et ne se coagule jamais." (Macé, p. 884.) (Vide tableau p. 200 à 203.)

Dans ce tableau, les bactéries sont groupées, pour faciliter les recherches, sans s'occuper de leurs caractères généraux, mais uniquement en tenant compte de leur action sur les milieux sucrés, les productrices de gaz premières en liste et, parmi celles-ci, le Bac. botulinus, anaérobie, mis en tête, pour ne pas le laisser isolé au milieu d'autres groupes, en même temps pour le rapprocher des bactéries fermentatrices; les non-productrices de gaz viennent ensuite.

En somme, le Bac. botulinus s'est montré fermentateur par excellence; avec tous les sucres il a décoloré le milieu qui ne présentait plus qu'une mince couche superficielle rouge.

Le Bact. coli est également excellent fermentateur.

D'une manière générale le milieu est devenu rouge et il y a eu production de gaz avec tous les sucres. Grimbart, comme on l'a vu, dit que c'est une exception lorsque le coli attaque la saccharose (d'après lui une fois sur sept).

Des 9 colis examinés, 7 d'entre eux ont produit du gaz avec la saccharose et le milieu est devenu rouge; le coli d, isolé de l'eau, n'a fait que rougir le milieu; le coli (matières fécales) n'a produit ni gaz, ni changement apparent.

Se sont aussi montrés fermentateurs: le Bact. acidi lactici, le Psittacosis, le Bact. vulgare (le milieu redevient bleu ou bleuâtre avec un assez grand nombre de sucres), le Typhi murium, les paratyphiques, le paratyphique B l'étant un peu plus que le paratyphique A. Le milieu est devenu rouge.

Les typhiques ont fait rougir le milieu avec la plupart des sucres. Nous avons vu que si la lactose a été attaquée, la surface est restée bleue et le milieu est redevenu bleu.

Les deux échantillons dysentériques examinés ont montré une action plus réduite que les typhiques. Le Shiga a fait rougir 7 sucres sur 20, le Piateda 5.

L'Alcaligenes a fait rougir 5 sucres également.

A noter que les quatre typhiques, les deux dysentériques et l'Alcaligenes sont restés sans action sur l'érythrite, l'adonite, la

Tableau récapitulatif de l'action des bactéries expé-
G = production de gaz; R = milieu rouge; — = aucun changement

	Glycérine	Erythrite	Adonite	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Mannite	Dulcite	Forbito
1. Bac. botulinus	{ 7/10 à 9/10 inférieurs de chaque tube décolorés.								
2. Italie	G R	G R	G R	G R	G R	G R	G R	G R	G R
3. abcès du lapin	"	"	"	"	"	"	"	R	"
4. urine de l'homme	"	—	"	"	—	R	"	G R	"
5. matières fécales	"	—	"	"	G R	G R	"	"	"
6. coli-dysentérique	"	G R	"	"	"	"	"	"	"
7. eau a	"	"	"	"	"	"	"	"	"
8. eau b	"	"	"	"	"	"	"	R	"
9. eau c	"	"	"	"	"	"	"	G R	"
10. eau d	"	"	"	"	R	"	"	R	"
11. Bact. acidi lactici	"	—	"	"	G R	"	"	—	"
12. Bact. psittacosis	"	—	—	"	—	"	"	G R	"
13. Bact. vulgare (No. 32 de la série)	R	G R	G R	R	G R	"	"	"	"
14. Bact. vulgare (No. 33 de la série)	G R	"	"	G R	"	"	"	"	R
15. Bact. typhi murium	"	"	"	"	"	"	"	"	G R
16. Bact. paratyphi A (Brion)	"	R	R	R	"	"	"	"	"
17. Bact. paratyphi B (Schottmüller)	"	G R	G R	"	"	"	"	"	R
18. Bact. paratyphi B (Zürich)	"	"	R	G R	R	"	"	"	G R
19. Italie	R	—	—	R	"	R	R	—	R
20. Lausanne	"	—	—	"	"	"	"	—	"
21. Bact. typhi Zürich	"	—	—	R redevient bleu	"	—	"	—	"
22. Königsberg	"	—	—	R redevient bleu	"	—	"	—	"
23. Bact. alcaligenes	"	—	—	R	"	—	—	—	—
24. Bact. dysenteriae (Piaveda)	—	—	—	"	"	R	—	—	—
25. Bact. dysenteriae (Shiga)	R	—	—	"	—	—	—	—	—

rimentées sur les divers sucres et le lait tournesolé.

apparent. Dans le lait: + = coagulation; — = pas de coagulation.

Glycose	Lévulose	Galactose	Amygdaline	Salicine	Saccharose	Lactose	Maltose	Raffinose	Dextrine	Inuline	Lait
GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	GR	+ R
"	"	"	"	"	"	"	"	R	"	"	+ R
"	"	"	"	"	"	"	"	GR	"	"	+ R
"	"	"	—	—	—	"	"	—	—	—	+ R
"	"	"	—	—	—	"	"	GR	GR	GR	+ R
"	"	"	GR	GR	GR	"	"	GR	"	"	+ R
"	"	"	"	"	"	"	"	R	"	"	+ R
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+ R
"	"	"	"	"	"	"	"	GR	"	"	+ R
"	"	"	"	"	R	"	"	"	"	"	siropeux
"	"	"	—	—	—	"	"	"	—	—	{ R
"	"	"	—	—	GR	—	"	"	—	—	+ R
"	"	"	—	—	GR	—	"	"	—	—	{ décoloré
"	"	"	—	GR	"	GR	"	"	GR	—	puis
"	"	"	—	"	"	"	"	"	"	—	bleuâtre
"	"	"	GR	"	"	"	"	"	"	R	+ puis
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	GR	liquide
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	jaunâtre-
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	brunâtre
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	+ puis
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	liquide
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	jaunâtre-
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	brunâtre
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	bleu
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	décoloré
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	puis bleu
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	décoloré
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	puis bleu
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	bleu
R	R	R	—	—	{ R	{ R	R	—	R	—	{ bleu
"	"	"	—	—	{ surface	{ surface	"	—	"	—	{ —
"	"	"	—	—	{ bleu	{ bleu	"	"	"	—	{ bleu
"	"	"	—	—	{ R	{ R	"	"	"	—	{ —
"	"	"	—	—	{ surface	{ surface	"	"	"	—	{ violet-
"	"	"	—	—	{ bleu	{ bleu	"	"	"	—	{ bleu
"	"	"	—	—	{ redev.	{ redev.	"	"	"	—	{ —
"	"	"	—	—	{ bleu	{ bleu	"	"	"	—	{ violet-
"	"	"	—	—	{ R	{ R	"	"	"	—	{ bleu
"	"	"	—	—	{ redev.	{ redev.	"	"	"	—	{ —
"	"	"	—	—	{ bleu	{ bleu	"	"	"	—	{ violet-
—	"	"	—	—	—	—	—	—	—	—	{ bleu
—	"	"	—	—	—	—	—	—	—	—	{ —
R	"	"	—	—	R	—	—	R	—	—	{ violet-
											{ bleu

	Glycérine	Erythrite	Adonite	Arabinose	Xylose	Rhamnose	Mannite	Dulcite	Sorbite
26. Bact. pneumoniae	R	—	R	R	R	R	R	—	R
27. Bact. rhinoscleromatis	"	—	"	"	"	"	"	—	"
28. Bact. ozaenae	"	—	"	"	—	—	"	—	"
29. Bact. Hog cholera	"	—	"	"	R	R	"	R	"
30. Bact. avicidum	—	—	—	—	—	—	"	—	"
31. Bact. pseudotubercul. (No. 25) rodentium	R	—	R	R	R	R	"	—	"
32. Bact. pseudotubercul. (No. 26) rodentium	"	R	"	"	"	"	"	R	"
33. Bact. pseudopestis	—	—	—	"	{ R un peu	—	—	—	—
34. Bact. pestis	R	—	—	"	R	—	R	—	—
35. Bact. pyocyaneum (No. 34 de la série)	décoloré puis R	—	—	décoloré puis bleu	décoloré puis R	—	—	—	—
36. Bact. pyocyaneum (No. 36 de la série)	décoloré puis rouge- violet	—	—	décoloré puis R	décoloré puis R	—	—	—	—

dulcite, l'amygdaline, la salicine, la raffinose, et l'inuline; seul le Shiga a fait rougir le milieu avec la raffinose.

Le Hog cholera, le Pneumoniae, le Rhinoscleromatis, l'Ozaenae, généralement cités comme produisant gaz et acide, n'ont pas donné trace de gaz, mais ils ont fait rougir le milieu avec un assez grand nombre de sucres.

L'Avicidum (Cholerae gallinarum) a fait rougir le milieu avec six sucres.

Le Pseudotuberculosis rodentium a fait rougir le milieu avec tous les sucres, à l'exception de l'inuline qui est restée indemne avec les deux échantillons expérimentés.

Le Bact. pestis a fait rougir 10 sucres; le Pseudopestis seulement 3.

Enfin, avec le pyocyannique, la caractéristique des sucres attaqués est la décoloration, suivie d'une recoloration rouge, rougeâtre, bleuâtre; 13 sucres sont restés sans changement apparent.

Des tentatives de groupement ont été faites pour rapprocher les bactéries qui font fermenter les mêmes sucres, mais alors bien entendu

Glycose	Lévulose	Galactose	Amygdaline	Salicine	Saccharose	Lactose	Maltose	Raffinose	Dextrine	Inuline	Lait
R	R	R	—	R	R	—	R	R	R	—	{ violet-rouge
"	"	"	—	"	"	—	—	"	"	—	{ lilas
"	"	"	—	"	"	—	R	"	—	—	{ bleuâtre
"	"	"	R	—	—	—	"	—	—	—	{ bleuâtre
"	"	—	"	—	R	—	—	—	—	—	{ lilas
"	"	R	"	R	"	R	R	R	R	—	{ violet-bleu et décoloré
"	"	"	"	"	"	"	"	"	"	—	{ brun-rougeât. à jaunât.
"	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	{ br.-clair
"	R	R	—	R	R	R	R	—	—	—	{ sans changement
—	décoloré puis bleu	"	—	—	R puis bleuâtre	—	—	—	R	—	{ + au fond du tube seulement; liquide brunâtre puis décolorat.
—	décoloré puis bleu	"	—	—	R puis bleuâtre	—	—	—	R puis bleuâtre	—	

en tenant compte de leurs caractères généraux les désignant déjà comme proches parentes.

Boycott¹⁾ constitue ainsi le groupe du typhique sans action sur la dulcité. Il rapproche, dans un 2^{me} groupe, les paratyphiques et le botulisme. (Dans ce groupe, il n'est pas question du Bac. botulinus van Ermengem, mais uniquement du Hog cholera et du Gärtner).

Ce 2^{me} groupe fait fermenter la dulcité.

Il produit acide et gaz avec la glycose, lévulose, maltose, galactose, arabinose, dextrine, mannite, dulcité et sorbite; il reste sans changement apparent avec lactose, saccharose, raffinose, érythrite, salicine, amygdaline et inuline.

Mais Boycott est immédiatement obligé d'enregistrer les exceptions suivantes:

Wells et Scott trouvent que le paratyphique B ne fait pas fermenter la dextrine, ce que Boycott attribue à la variation du produit chimique;

1) L. c. p. 35.

Drigalski trouve que le Bact. Aertryck (botulisme) ne produit pas de changement avec la maltose après des essais répétés;

Brion, Kayser et Korte disent que le paratyphique B produit du gaz en bouillon lactosé;

Mac Conkey dit que les paratyphiques A et B donnent acide et gaz avec la raffinose;

Drigalski, Conradi et Jürgens décrivent le Schottmüller B et un échantillon de paratyphique B, isolé par eux-mêmes, attaquant la raffinose, comme le typhique; le milieu est décoloré, la surface reste bleue.

Du présent travail il résulte que les paratyphiques A et B ont produit du gaz et fait rougir le milieu avec la saccharose, la lactose, la raffinose (A pas de gaz) et l'érythrite; avec la salicine, l'amygdaline et l'inuline, l'action a varié.

Le Hog cholera n'a pas donné de gaz.

Voilà donc toute une série d'exceptions au groupement créé par Boycott.

D'après Grimbert¹⁾, Smith, Frankland et Frew disent, à propos du Friedländer, qu'il n'attaque ni la glycérine, ni la dulcité, tandis que le premier auteur a trouvé, au contraire, en examinant un Friedländer, du laboratoire de M. Roux, „qu'il attaque énergiquement glycérine et la dulcité“.

Ces faits, exceptions et contradictions, se présenteront sans doute encore.

Faisant abstraction des différences qui résultent des divers milieux de culture employés, des substances ajoutées (carbonate de chaux, par ex.), des variations chimiques de celles-ci, des divergences dans la technique suivie, il faut, pour comprendre ces exceptions, en arriver à la notion de l'espèce elle-même. Si l'on considère celle-ci, non plus comme une entité invariable, immuable, mais comme un ensemble de races, de variétés, les différences se comprennent et s'expliquent plus facilement.

Il est évidemment banal de rappeler qu'aucun bactériologiste, s'occupant de recherches analytiques, n'ignore les difficultés que l'on rencontre parfois pour la détermination d'une espèce bactérienne. Ces difficultés de classification sont manifestes dans tous les ouvrages de bactériologie, où l'on insiste sur les nombreuses formes de passage d'une espèce à l'autre, formes dont le nombre va toujours croissant.

Dans une étude récente sur la variation des bactéries, Massini²⁾, au cours du développement d'un coli, a trouvé à quelques colonies de l'espèce des propriétés particulières qui surgissent tout-à-coup, se conservent indéfiniment et se transmettent héréditairement aux descendants.

Cette constatation de propriétés nouvelles, acquises et définitives, que de Vries a déjà signalées pour des espèces botaniques et qu'il a désignées sous le nom de „mutation“, jette un nouveau jour sur la question de la variabilité des bactéries.

Nous avons vu également, au cours de ce travail, que Denys et Martin affirment que le Friedländer perd ses propriétés fermentatives sur la glycose et la lactose, lorsqu'il a été au préalable cultivé pendant quelques mois.

1) Ann. de l'Inst. Pasteur. T. IX. 1895. p. 842.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LXI. 1907. Heft 3. p. 250.

Enfin dernièrement, Sacquépée¹⁾, en rendant compte d'un travail de Twort sur la fermentation des glycosides par les bactéries du groupe coli-typhique, écrit qu'en „cultivant pendant plusieurs semaines (plusieurs générations) des microbes sur des milieux renfermant des sucres qu'ils étaient incapables d'utiliser auparavant, Twort put arriver peu à peu à développer l'activité fermentative de chaque espèce. Ainsi le paratyphique B, de même que les bacilles Kruse et Flexner, acquirent la propriété de fermenter la saccharose, le bacille typhique devint capable de fermenter la dulcité et la lactose. Il est possible que des organismes pathogènes dans le groupe typhoïde coli arrivent à altérer à tel point leurs caractères qu'ils deviennent méconnaissables quand ils se sont développés quelque temps dans l'eau, le sol etc.“

Il n'y a donc pas lieu d'être surpris si telle race, ou variété bactérienne diffère dans son action sur l'un ou l'autre des sucres; il ne s'agit sans doute plus que de propriétés acquises ou perdues, simples variations au cours de la vie microbienne.

Nachdruck verboten.

Weitere Beobachtungen über paroxysmale Hämoglobinurie.

[Aus dem patholog.-anatom. Institute (Hofr. Prof. Weichselbaum) und der I. mediz. Klinik (Prof. v. Noorden) in Wien.]

Von Dr. Julius Donath und Dr. Karl Landsteiner.

In unserer vor drei Jahren erschienenen Arbeit über paroxysmale Hämoglobinurie²⁾ haben wir den Nachweis erbringen können, daß bei dieser Erkrankung im Blut ein Hämolsin (Hb-Lysin) vorhanden ist, das die Blutauflösung während der Anfälle bewirkt. Das genauere Studium der Blutauflösung durch Nachahmung des Anfalles in vitro mittels der von uns angegebenen Versuchsanordnung führte uns zu dem Ergebnis, daß die Hämolyse auf folgende Weise zustande kommt: Bei der Abkühlung des Blutes wird ein im Serum des Hämoglobinurikers enthaltener toxischer Körper von den roten Blutkörperchen absorbiert und bei dem nachfolgenden Erwärmen lösen sich die Blutzellen mit Hilfe eines auch in normalem Serum vorhandenen, leicht durch Wärme zerstörbaren Agens (Komplement).

Seit dem Erscheinen unserer Arbeit sind Mitteilungen über diese Frage von einigen Autoren erschienen, die sich der von uns angegebenen Methode bedienen; wir selbst haben unsere Untersuchungen an zwei der früheren sowie an drei neuen Fällen vervollständigt, mittels derselben Versuchsanordnung eine größere Reihe von gesunden und an verschiedenen Krankheiten leidenden Personen untersucht und die Bedeutung der die Krankheit begleitenden Gefäßinnervationsstörungen für das Zustandekommen der Anfälle erörtert³⁾.

Die tatsächlichen Ergebnisse unserer Untersuchungen wurden von

1) Bull. de l'Inst. Pasteur. 1907. p. 523.

2) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 36.

3) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVIII. 1906.

Widal und Rostaine¹⁾, Langstein²⁾, Eason³⁾ bestätigt. Da wir seit dem Erscheinen unserer letzten Mitteilung abermals Gelegenheit hatten, zwei Fälle von paroxysmaler Hämoglobinurie zu untersuchen und wieder ein positives Resultat erhielten, so ist bisher in mehr als zehn darauf untersuchten Fällen von p. H. der Nachweis eines Hämolsines jedesmal erbracht worden.

Wir möchten hier auf einen Teil der erwähnten Arbeiten eingehen und zugleich über einzelne weitere von uns durchgeführte Untersuchungen berichten.

Während Langstein und Eason sich unserer Auffassung über den Mechanismus der Hämolyse anschließen, vertreten Widal und Rostaine eine abweichende Ansicht. Sie nehmen an, daß nicht, wie wir meinen, das Serum der Hämoglobinuriker durch das Vorhandensein eines besonderen hämolytischen Stoffes charakterisiert sei, sondern durch „Insuffizienz“ eines antihämolytischen Stoffes, der einem im normalen menschlichen Serum angeblich vorhandenen Hämolsin das Gleichgewicht halte und dessen Wirkung hemme.

Man würde demnach glauben, daß Widal und Rostaine den Versuch machten, ein Autolysin im normalen Serum nachzuweisen; tatsächlich bemühten sie sich aber nicht, das angenommene Hämolsin durch irgend einen Versuch mit normalem Serum zu demonstrieren, sie übernehmen vielmehr eine von Besredka⁴⁾ geäußerte Ansicht und suchen die Erscheinungen bei der Hämoglobinurie damit in Einklang zu bringen. Die Betrachtung von Besredka basiert auf folgendem: Nimmt man ein normales oder Immunserum, das die Blutkörperchen irgend einer Tierart auflöst, so findet man, daß die Hämolyse sich besser durch inaktiviertes Serum derjenigen Tierart, der die Blutkörperchen angehören, hemmen läßt, als durch Serum einer anderen Tierart. Besredka schließt daraus auf das Vorhandensein eines spezifischen Antihämolsins im Serum und meint, dieses sei auch die Ursache dafür, daß trotz dem von ihm für möglich gehaltenen Vorhandensein eines autolytischen Stoffes im Serum normaler Tiere doch deren Blutkörperchen in Wirklichkeit nicht gelöst würden. Besredka hielt es für schwer durchführbar, autolytische Stoffe aufzufinden und verzichtete deshalb auf ihren Nachweis. Die Autolysine Besredkas, die von Widal und Rostaine zur Erklärung herangezogen werden, sind demnach sowohl als solche, als auch was ihre Wirkung betrifft, hypothetisch, was übrigens Besredka selbst ausdrücklich anführt.

Zur Stütze ihrer Ansicht über das Zustandekommen der Hämolyse bei der Hämoglobinurie teilen Widal und Rostaine folgende Versuche mit: 1) Nach Zusatz einer geringen Menge eines inaktivierten antihämolytischen Immunserums (hergestellt durch Behandlung von Kaninchen mit menschlichem Vollblut) zum Hämoglobinurieserum bleibt die Hämolyse bei dem nach unserer Methode angestellten Versuche aus. 2) Derselbe Effekt kann erzielt werden, wenn man die mit dem Hämoglobinurieserum in der Kälte behandelten Blutkörperchen wäscht, Immunserum zufügt, wieder wäscht und dann frisches menschliches Serum zufügt.

1) Comptes rend. soc. de biologie. 1905. No. 7—9.

2) Med. Klinik. 1905. No. 45.

3) Edinb. Med. Journal. 1906. p. 43. Journal of Pathology und Bacteriology. Vol. XI. March 1906. Scottish Medical and Surgical Journal. May 1906. Von den Mitteilungen von Eason enthält die eine (Edinb. Med. Journal. 1906) Versuche.

4) Annales de l'Institut Pasteur.

Widal und Rostaine setzen voraus, daß in dem auf die angegebene Weise hergestellten Immunserum eine antisensibilisierende Substanz vorhanden ist, welche die „insufficiente“ antisensibilisierende Substanz im Hämoglobininuriserum ergänzt. Es ist dazu zu bemerken, daß in Fällen, wie der vorliegende, die Entscheidung nicht immer leicht ist, ob die antihämolytische Wirkung eines Immunserums durch eine antisensibilisierende Substanz hervorgerufen worden ist, oder die Folge eines Präzipitationsvorganges ist, der durch die in den betreffenden Seren vorhandenen Präzipitine hervorgerufen wurde¹⁾. Nimmt man aber auch, was nicht unwahrscheinlich ist, in dem Immunserum eine antisensibilisierende Substanz an, so läßt sich daraus nichts gegen unsere Ansicht folgern, da das Immunserum auch wirken muß, wenn, wie wir annehmen, im Hämoglobininuriserum ein abnormer oder abnorm großer Gehalt von hämolytischen Stoffen vorhanden ist. Wir haben selbst ähnliche Hemmungsversuche ausgeführt und zwar mit Immunserum, das durch Injektion von normalen menschlichen Seren und solchem, das mit Hilfe von Hämoglobininuriserum erzeugt worden war. Als Beispiel diene folgender Versuch:

Versuch:

Serum des Hämoglobininuriealles R., gewaschene Blutkörperchen desselben. Durch $\frac{1}{2}$ -stündiges Erhitzen auf 55° inaktiviertes normales Kaninchenserum (norm. K.), Hämoglobinurie-Immunserum (HI) und Menschen-Immunserum (MI).

Es wird Hb-Serum im Verhältnis 4:1 resp. 4:3 mit inakt. HbI, inakt. MI und inakt. norm. K. gemischt, $\frac{1}{2}$ Stunde im Brutofen stehen gelassen, dann je 1 Tropfen Hb-Blutkörperchen zu jeder Probe zugesetzt und die Proben erst für $\frac{1}{2}$ Stunde ins Eis und dann für 2 Stunden in den Brutofen gebracht.

						Hämolysc	Präzip. Wirkung auf Menschen-serum
4 Tropfen Hb-Serum	+ 1 Tropfen NaCl					kompl.	
4 "	" + 3 "	"	"	"	"	"	
4 "	" + 1 "	"	"	inakt. HI No. 1	"	"	stark
4 "	" + 3 "	"	"	HI No. 1	"	"	sehr stark
4 "	" + 1 "	"	"	HI No. 5	fast kompl.	"	schwach
4 "	" + 3 "	"	"	HI No. 5	stark	"	"
4 "	" + 1 "	"	"	HI No. 7	"	"	deutlich
4 "	" + 3 "	"	"	HI No. 7	"	"	stark
4 "	" + 1 "	"	"	MI No. 10	stark	"	"
4 "	" + 3 "	"	"	MI No. 10	schwach	"	sehr stark
4 "	" + 1 "	"	"	MI No. 21	fast kompl.	"	schwach
4 "	" + 3 "	"	"	MI No. 21	schwach	"	stark
4 "	" + 1 "	"	"	norm. K No. 18	fast kompl.	"	schwach
4 "	" + 3 "	"	"	norm. K No. 18	"	"	"
4 "	" + 1 "	"	"	norm. K No. 19	kompl.	"	"
4 "	" + 3 "	"	"	norm. K No. 19	"	"	Spur

Die hemmende Wirkung erwies sich in diesem Versuche bei den mit Immunserum versetzten Proben meist als sehr ausgesprochen. Die durch Injektion von Hämoglobininuriserum erzeugten Immunsera wirkten zwar etwas stärker als die durch Normalserum erzeugten, aber nicht in dem Maße und nicht mit solcher Konstanz, daß wir daraus bis jetzt irrig einen Schluß ziehen möchten.

Eine Stütze ihrer Ansicht sehen Widal und Rostaine ferner in dem Umstande, daß durch Erhitzen auf 55° das Serum des Hämog-

1) Vergl. Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1905, 1906 und Pfeiffer und Moreschi, Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 2.

globulinurikers die Eigenschaft verliere, die Blutkörperchen in der Kälte zu sensibilisieren. Sie halten es für unmöglich, diese Wirkung auf eine Zerstörung der sensibilisierenden Substanz zu beziehen, da nach ihrer Meinung sensibilisierende Stoffe bei der Temperatur von 55° nie zerstört werden; es könne sich also nur um eine Einwirkung der Erwärmung auf die supponierte antisensibilisierende Substanz handeln, und zwar nehmen Widal und Rostaine eine Verstärkung dieser Substanz durch die Erwärmung an. Diese Ueberlegung trifft nicht zu: Abgesehen davon, daß sich eine aprioristische Regel für das Verhalten sensibilisierender Substanzen nicht angeben ließe, sind schon sensibilisierende Substanzen bekannt, die bei den in Frage kommenden Temperaturen zerstört werden (so fanden Sachs und Morgenroth thermolabile auch bei 55° schon zerstörbare Sensibilisatoren [Berl. klin. Wochenschr. 1902. No. 9 u. 10¹⁾]). Es ist aber außerdem nicht richtig, daß die sensibilisierende Substanz des Hämoglobinuriereserums durch kurzes Erwärmen auf 55° zerstört wird. Wir haben Versuche über die Reaktivierbarkeit des inaktivierten Hämoglobinuriereserums schon mitgeteilt²⁾ und neuerdings ähnliche Versuche mit dem gleichen Erfolge ausgeführt. Den Versuchen zufolge verhielt sich das Hämoglobinuriereserum beim Erwärmen wie ein gewöhnliches hämolytisches Serum, das mit Hilfe einer thermostabilen und thermolabilen Substanz wirkt; das Vorhandensein einer besonderen antilytischen Substanz anzunehmen, ist für die Erklärung der Inaktivierungsversuche unnötig.

1. Versuch.

Serum des Hb-Falles K., Blutkörperchen desselben gewaschen, normales Menschenserum. Hb-Serum bei 55° (1/2 Stunde) inaktiviert.

Zum inakt. Hb-Serum werden Hb-Blutk. im Verhältnis 5:1 zugefügt, nach 1/2-stündigen Verweilen im Eis werden die Blutkörperchen in der Kälte abzentrifugiert, bei ca. 0° mit NaCl-Lösung gewaschen; der Bodensatz (B) wird in 2 Teile geteilt und dazu aktiv. normal. Serum resp. NaCl-Lösung zugefügt, die Proben kommen dann für 2 Stunden in den Brutofen.

Das Normalserum wirkte nicht isolytisch auf die verwendeten Blutkörperchen. Das Hb-Serum gab den typischen Versuch stark.

		Hämolyse
3 Tropfen B + 5 Tropfen norm. Serum		sehr stark
3 " B + 5 " NaCl		ø

2. Versuch.

Serum des Hb-Falles R., Blutkörperchen desselben gewaschen, bei 55° (1/2 Stunde) inaktiviertes Serum desselben. 4 normale Menschensera. Dieselbe Versuchsanordnung wie im vorhergehenden Versuch.

Die 4 Menschensera wirkten nicht isolytisch auf die verwendeten Blutkörperchen. Das Hb-Serum gab den typischen Versuch sehr stark.

			Hämolyse
3 Tropfen B + 5 Tropfen norm. Serum I			sehr stark
3 " B + 5 " "		II	"
3 " B + 5 " "		III	"
3 " B + 5 " "		IV	"
3 " B + 5 " NaCl			ø

Wenn auch nach dem bisher Gesagten die Versuche von Widal und Rostaine keine Stütze für ihre Ansicht gaben, so haben wir uns

1) Es ist nochmals zu betonen, daß die Zerstörungstemperatur der kolloidalen Immunkörper nicht als fixe Punkte, wie etwa Schmelzpunkt oder Siedepunkt aufzufassen sind, die betreffenden Veränderungen gehen vielmehr innerhalb großer Temperaturintervalle nur mit verschiedener Geschwindigkeit vor sich.

2) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LVIII. 1906.

doch bemüht, auf experimentellem Wege über die Berechtigung dieser Annahme selbst ein Urteil zu gewinnen.

Wenn normale menschliche Sera im Vergleiche zum Hämoglobinuriserum einen Ueberschuß von antihämolytischer Substanz enthalten, so müßten sie die Fähigkeit haben, die Wirkung des Hb-Lysins zu hemmen.

1. Versuch.

Hb-Serum (Fall Z.), Blutkörperchen desselben Falles, durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erhitzen auf 60° inaktiviertes Hb-Serum, inaktiviertes normales Menschenserum.

Eine Mischung von Hb-Serum und inaktiv. norm. Serum resp. inaktiv. Hb-Serum im Verhältnis 1:1 wird $\frac{1}{4}$ h in den Brutofen gegeben, dann je ein Tropfen Hb-Blutkörperchen zugeführt und die Proben erst $\frac{1}{2}$ h im Eis dann 2 h im Brutofen gehalten.

1) 5 Tropfen Hb-Serum	+	5 Tropfen NaCl		Hä molyse
2) 5 "	"	+	5 " inakt. Hb-Serum	mittelstark
3) 5 "	"	+	5 " norm. Serum I	schwach
4) 5 "	"	+	5 " " II	θ

2. Versuch.

Hb-Serum (Fall Z.) und Blutkörperchen desselben Falles. Hb-Serum durch $\frac{1}{2}$ h Erhitzen auf 60° inaktiviert, normales Menschenserum durch $\frac{1}{4}$ h Erhitzen auf 55° und $\frac{1}{2}$ h Erhitzen auf 60° inaktiviert. Das aktive Menschenserum wirkte in diesem und den folgenden Versuchen nicht isolytisch auf die verwendeten Blutkörperchen. Versuchsanordnung wie bei Versuch 1.

1) 6 Tropfen Hb-Serum	+	6 Tropfen NaCl		Hä molyse
2) 6 "	"	+	6 " inakt. Hb-Serum (60°)	stark
3) 6 "	"	+	6 " akt. norm. Serum I	schwach
4) 6 "	"	+	6 " inakt. " "	stark
5) 6 "	"	+	6 " " " (55°)	mittel
6) 6 "	"	+	6 " " " (60°)	schwach
7) 6 "	"	+	6 " akt. " "	Spur
8) 6 "	"	+	6 " inakt. " "	θ
			" " " (60°)	θ

3. Versuch.

Hb-Serum (Fall K.), Blutkörperchen desselben Falles. Durch $\frac{1}{2}$ h Erhitzen auf 60° inaktiviertes Hb-Serum und normales Menschenserum. Die gleiche Versuchsanordnung wie früher.

1) 6 Tropfen Hb-Serum	+	6 Tropfen NaCl		Hä molyse
2) 6 "	"	+	6 " akt. norm. Serum I	stark
3) 6 "	"	+	6 " inakt. " "	fast kompl.
4) 6 "	"	+	6 " " " II	"
5) 6 "	"	+	6 " " Hb-Serum	teilweise
				fast kompl.

4. Versuch.

Hb-Serum (Fall K.), Blutkörperchen desselben Falles. Durch $\frac{1}{2}$ h Erhitzen auf 60° inaktiviertes Hb-Serum und normales Menschenserum. Die gleiche Versuchsanordnung.

1) 5 Tropfen Hb-Serum				Hä molyse
2) 5 "	+	6 Tropfen inakt. Hb-Serum		komplett
3) 5 "	+	6 " akt. norm. Serum		fast kompl.
4) 5 "	+	6 " inakt. " "		stark
				"

5. Versuch.

Hb-Serum (Fall R.), Blutkörperchen desselben Falles. Dieselbe Versuchsanordnung wie in Versuch 4.

1) 4 Tropfen Hb-Serum				Hä molyse
2) 4 "	+	4 Tropfen inakt. Hb-Serum		stark
3) 4 "	+	4 " akt. norm. Serum I		θ
4) 4 "	+	4 " inakt. " "		kompl.
5) 4 "	+	4 " akt. " "		θ
6) 4 "	+	4 " inakt. " "	II	kompl.
				θ

6. Versuch.

Hb-Serum (Fall R.), Blutkörperchen desselben Falles. Dieselbe Versuchsanordnung wie in Versuch 4.

				Hämolyse
1)	5 Tropfen Hb-Serum			sehr stark
2)	5 "	+	5 Tropfen inakt. Hb-Serum	" "
3)	5 "	+	5 " akt. norm. Serum I	" "
4)	5 "	+	5 " inakt. " " II	" "
5)	5 "	+	5 " akt. " " II	" "
6)	5 "	+	5 " inakt. " "	stark

Aus den mitgeteilten Versuchen ergibt sich, daß frische, normale Menschensera die Hämoglobinurie-Hämolyse meistens nicht beeinträchtigen, daß sie also keine überschüssige antihämolytische Substanz enthalten. Die durch Erwärmen inaktivierten Sera zeigen allerdings eine hemmende Wirkung; diese sollte entsprechend der Hypothese von Widal und Rostaine konstant größer sein, als die des erhitzten Hämoglobinurieserums, was aber nicht der Fall ist. Für diejenigen Fälle, wo die hemmende Wirkung des Hämoglobinurieserums tatsächlich eine schwächere ist als die des Normalserums, ist zu bemerken, daß, wie oben nachgewiesen wurde, das Hämoglobinurieserum nach dem Erhitzen noch aktivierbares Hb-Lysin enthält, welches dazu beitragen muß, daß eine Differenz der Hemmungswirkung zu Ungunsten des Hämoglobinurieserums resultiert. Das Ergebnis dieser Versuche läßt sich also besser mit unserer Ansicht in Einklang bringen, als mit der von Widal und Rostaine.

Da bei der eben angeführten Versuchsanordnung das nach dem Erwärmen des Hämoglobinurieserums zurückbleibende Hb-Lysin eine Schwierigkeit bei der Beurteilung verursacht, haben wir die hemmende Wirkung erhitzter normaler und Hämoglobinuriesera auf andere hämolytische Prozesse studiert, bei denen die genannte Schwierigkeit nicht besteht. Die Widal und Rostainesche Hypothese basiert, wie schon erwähnt, auf den Versuchen von Besredka. Es müßte daher bei der Besredkaschen Versuchsanordnung unbedingt das Hämoglobinurieserum konstant schwächer hemmen, als normales Serum. Widal und Rostaine haben diesen Versuch auch schon ausgeführt, wie sie sagen, mit inkonstantem Erfolg. Dies allein erschüttert ihre Hypothese. Auch wir haben die nach der Annahme von Widal und Rostaine vorauszusetzende Erscheinung nicht nachweisen können, obwohl das verwendete Serum in ausgesprochener Weise die Hämoglobinuriereaktion gab.

Versuch.

Zu normalem Kaninchenserum werden im Verhältnis 1 : 1 und 2 : 1 inaktivierte menschliche Sera (20' auf 58° erhitzt), die nicht isolytisch wirken und ebenso inaktiviertes Hb-Serum zugefügt. Es wird nun die hämolytische Wirkung der Mischungen auf Menschenblut geprüft, dabei zeigt sich die lösende Wirkung in den Proben mit Hb-Serum nicht stärker als in den anderen Proben.

Es ist übrigens auch nicht bewiesen, daß schon das normale menschliche Serum die vorausgesetzte antihämolytische Substanz enthält, und es ist leicht möglich, daß die Hemmungswirkung auf eine beim Erwärmen des Serums eintretende Veränderung des Serum wenigstens zum Teil zurückzuführen ist¹⁾. Dieser Ueberlegung entsprechend, haben wir zu ermitteln betrachtet, ob sich hemmende Substanzen schon im unerhitzten Normalserum nachweisen lassen, daß nach Widal und Rostaine

1) Vgl. Noguchi, (Journ. of exper. Medic. Vol. VIII. No. 6. 1906 und Landsteiner und Stankovic Centralbl. f. Bakt. Bd. XLII p. 353.

Hämolysin und Antihämolysin gleichzeitig enthalten soll. Es wurde zu diesem Zwecke normales menschliches Serum mit menschlichen Blutkörperchen in der Kälte behandelt, um die von W. und R. supponierte sensibilisierende Substanz zu absorbieren und einen Ueberschuß der hemmenden Substanz auffinden zu können. Auch auf diese Weise läßt sich aber im aktiven normalen Menschenserum keine hemmende Substanz nachweisen.

Versuch.

Hb-Serum (Fall Z.), Blutkörperchen desselben Falles, normales Menschenserum. Es wird zunächst eine Mischung von 20 Tropfen normalen Serums + 4 Tropfen Hb-Blut durch $\frac{1}{2}$ h im Eiskasten gehalten, dann kalt abzentrifugiert und die Flüssigkeit vom Bodensatz abgesaugt.

8 Tropfen abgehobene Flüssigkeit + 5 Tropfen Hb-Serum + 1 Tropfen Hb-Blut zeigen nach Aufenthalt von $\frac{1}{2}$ h bei 0° und 2 h bei 37° deutliche Lösung.

Zusammenfassend ist also über die Widal und Rostainesche Hypothese zu sagen, daß beide Stoffe, die sie im frischen normalen Serum voraussetzt, nämlich die autohämolytische und ebenso die anti-autolytische Substanz, experimentell bisher nicht nachweisbar sind. Die Hypothese wäre demnach nur unter der Bedingung möglich, daß im normalen Serum lytische und antilytische Substanz in genau äquivalenten Mengen und untrennbar verbunden vorhanden sind, so daß weder die Wirkung der einen noch der anderen isoliert aufzufinden ist. Eine solche Hypothese ist aber offenbar überflüssig, da man die angenommene Kombination einfach weglassen kann ohne an der Betrachtung der Erscheinung etwas zu ändern, und wir müssen demnach unserer Erklärung, die nur das wirklich nachgewiesene Hb-Lysin voraussetzt, den Vorzug geben.

Zur Frage der Herkunft des Hb-Lysins könnten schon die erwähnten Versuche über die Neutralisation des Lysins durch das Serum von Kaninchen, die mit Menschenserum vorbehandelt wurden, einige Aufklärung geben. Wenn man nämlich annimmt, daß die Wirkung der Immunsera nicht auf Komplementbindung, sondern auf dem Vorhandensein eines Antilynsins¹⁾ beruht, so würde schon daraus hervorgehen, daß das Hb-Lysin in eine Kategorie mit anderen Lysinen des Blutserums zu stellen ist. Nach den Erfahrungen von Pfeiffer, Bordet u. A. hemmen nämlich die durch Injektion von Normalserum erhaltenen Immunsustanzen die Wirkung aller lytischer Serumstoffe des betreffenden Normalserums oder auch eines Immunserums, das derselben Tierart entstammt.

In gleichem Sinne, nämlich dafür, daß das Hb-Lysin im menschlichen Körper entsteht und nicht von außen zugeführt ist, würde auch der Umstand sprechen, daß es nur in Verbindung mit dem Serumkomplement wirksam wird, ein Verhalten, welches z. B. wenigstens bei bakteriellen Hämolysinen bisher nicht beobachtet wurde. In diesem Zusammenhang möchten wir auch darauf hinweisen, daß die Wirkung der physiologischen Autoagglutinine in ähnlicher Weise wie die des Hb-Lysins in hohem Grade von Temperaturveränderungen beeinflusst wird²⁾.

Um für die endogene Natur des Giftes, die uns gegenwärtig sehr wahrscheinlich ist, neue Anhaltspunkte zu finden, haben wir uns bemüht, ähnliche, d. h. bei Abkühlung wirksam werdende Hämolysine im normalen Organismus nachzuweisen. Wir hatten ein positives Resultat, als wir Serum von Kaninchen mit zugefügten eigenen Blutkörperchen abkühlten

1) i. e. Antiambozeptor, antisensibilisierende Substanz.

2) Landsteiner, Münchn. med. Wochenschr. 1902.

und nachher (nach Waschen der Blutkörperchen mit NaCl-Lösung in der Kälte) Meerschweinchenkomplement zufügten. Wir erhielten dann in mehreren Fällen bei normalen Kaninchen hämolytische Wirkungen in wechselnder Intensität¹⁾.

1. Versuch.

2 normale Kaninchenserum. Blutkörperchen derselben Tiere. Frisches Meerschweinchen Serum. Eine Mischung von Kaninchenserum mit den eigenen Blutkörperchen im Verhältnis 10:1 wird in 2 Teile geteilt; Probe a) wird $\frac{1}{4}$ ins Eis gestellt, kalt gewaschen, abzentrifugiert, Probe b) bleibt ebenso lange bei Zimmertemperatur, wird dann gewaschen und abzentrifugiert; zu je 1 Tropfen des Bodensatzes beider Proben wird $\frac{1}{2}$ ccm NaCl-Lösung und 1 Tropfen Meerschweinchen Serum zugefügt und die Proben für 2^b in den Brutschrank gegeben.

normal. Kaninchenserum	I a)	Hä molyse
" "	b)	stark
" "	II a)	ø
" "	b)	sehr stark
" "		ø

2. Versuch.

Serum von 5 normalen Kaninchen. Dieselbe Versuchsanordnung.

normal. Kaninchenserum	I a)	Hä molyse
" "	b)	Spur
" "	II a)	ø
" "	b)	deutlich
" "	III a)	ø
" "	b)	schwach
" "	IV a)	Spur
" "	b)	ø
" "	V a)	ø
" "	b)	stark
" "		schwach

3. Versuch.

Serum und Blutkörperchen von 2 normalen Kaninchen. Dieselbe Versuchsanordnung.

normal. Kaninchenserum	I a)	Hä molyse
" "	b)	Spur
" "	II a)	ø
" "	b)	ø
" "		ø

4. Versuch.

Serum und Blutkörperchen von 2 normalen Kaninchen. Dieselbe Versuchsanordnung.

normal. Kaninchenserum	I a)	Hä molyse
" "	b)	Spur
" "	II a)	ø
" "	b)	ø
" "		ø

Diese Versuche lassen erkennen, daß im normalen Serum in ähnlicher Weise wie autoagglutinierende auch autolytische Stoffe vorhanden sein können. Ihr Nachweis scheint in dem vorliegenden Fall, soviel wir bis jetzt gefunden haben, an die Verwendung eines artfremden Serums als Komplement gebunden zu sein. Dieser Umstand macht es begreiflich, wenn bei den Tieren durch Abkühlung Hämoglobinurie nicht zu erzielen ist, läßt aber auch daran denken, daß ein solcher Versuch bei passend gewählten Bedingungen doch realisierbar sein könnte.

Wenn nun die erwähnten Erfahrungen nach unserer Meinung durchaus dafür sprechen, daß das Hb-Lysin in seiner Beschaffenheit den Lysinen des Serums entspricht, so ist doch anzunehmen, daß die Bildung

1) Vgl. Tagung der freien Vereinigung für Mikrobiologie, Berlin 1906.

dieses pathologischen Stoffes durch die Einwirkung infektiöser Agentien angeregt wird. Es geht dies unmittelbar daraus hervor, daß die paroxysmale Hämoglobinurie, wie aus den Angaben der Literatur hervorgeht, in einem nicht unbeträchtlichen Prozentsatz der Fälle einer syphilitischen Infektion nachfolgt. In den von uns beobachteten Fällen fand sich Syphilis 3mal unter 5 Fällen, in den übrigen Fällen stehen uns keine Daten zur Verfügung.

Wie wir schon früher erwähnten, ist es aber möglich, daß auch andere Infektionskrankheiten eine ätiologische Rolle für die p. H. spielen könnten.

Wenn nun die Entstehung des Hb-Lysins mit dem Ablauf gewisser Infektionen in Zusammenhang steht, so wird dadurch der von uns schon ausgesprochene¹⁾ Gedanke nahe gelegt, daß die Entstehung von auto-toxischen Stoffen, die von den Zellen des eigenen Organismus gebunden werden, mit dem Prozeß der Antikörperbildung in Beziehung stehen kann, eine Möglichkeit, die, soviel wir wissen, vorher nicht diskutiert worden ist.

In unserer früheren Mitteilung haben wir berichtet, daß wir das Hb-Lysin in einer Anzahl von Fällen von progressiver Paralyse auffinden konnten und daß in diesen Fällen wahrscheinlich nur deshalb die Hämoglobinurie ausbleibt, weil die eine genügende Abkühlung des Blutes ermöglichenden pathologischen Veränderungen der Vasomotoren fehlen. Bei neuerdings vorgenommenen Prüfungen war der Prozentsatz der positiven Fälle bei progressiver Paralyse geringer als früher, es fanden sich nämlich unter 28 untersuchten Fällen 1 mit schwach positivem Ausfall.

Hingegen weist die weitere Beobachtung des einen von uns mitgeteilten Falles (Fall K.) wieder auf eine Beziehung zwischen den genannten Krankheiten, der paroxysmalen Hämoglobinurie und der progressiven Paralyse, hin, die allerdings möglicherweise ihren Grund nur darin hat, daß eben beide durch Syphilis verursacht werden können.

Fall K., eine typische Hämoglobinurie, stellte sich am 5. November 1906 an der ersten medizinischen Klinik wieder vor und zeigte nunmehr die klassischen Symptome der progressiven Paralyse. (Gedächtnisschwäche, Silbenstolpern, Verwirrtheit, Kleinheitswahn; somatisch: Pupillenstarre, sehr lebhaftes Patellarreflexe, Romberg.) nach kurzer Zeit bekam der Kranke Tobsuchtsanfälle und wurde auf die psychiatrische Klinik transferiert, wo nach einem sehr raschen Verlauf der Erkrankung am 19. Dezember 1906 der Exitus eintrat.

Der Sektionsbefund ergab am Hirn die charakteristischen Veränderungen der progressiven Paralyse: Atrophie der Hirnrinde, chronische Leptomeningitis, Ependymgranulationen. Sonst fanden sich auffallende Veränderungen, die offenbar mit der paroxysmalen Hämoglobinurie zusammenhängen, in den Nieren: Nierenkapsel leicht abziehbar, die Rinde auf dem Durchschnitt verschmälert, die Pyramiden graubraun bis schwärzlichbraun mit schwärzlicher Steifung, entsprechend der Kanälchenrichtung, das Rindenparenchym im ganzen heller braungelb, stark gegen die Pyramidensubstanz kontrastierend, mit kleinen schwärzlichen Pünktchen und Streifen; die Oberfläche, nach Abziehen der Kapsel glatt zeigt dunkelrote und schwärzliche Pünktchen auf graugelbem Grunde. Gewicht: r. Niere 145, l. Niere 190.

In Anbetracht der ätiologischen Verhältnisse sollten ähnliche Kombinationen, wie wir eine zu beobachten Gelegenheit hatten und im Vorstehenden mitgeteilt haben, sich öfter ereignen können. Tatsächlich verdanken wir einer mündlichen Mitteilung von Herrn Professor Redlich in Wien die Kenntnis eines Falles, in dem paroxysmale Hämoglobinurie mit Tabes dorsalis vergesellschaftet war.

1) l. c. Zeitschr. f. klin. Mediz. Bd. LVIII. 1906.

Nachdruck verboten.

Subcutaneous fibro-granulomata in cattle.

By **Paul G. Woolley, M. D.,**

Chief Sanitary Inspector for the Kingdom of Siam and Medical Advisor to the Department of the Interior, Bangkok, Siam.

With 4 figures.

In connection with the reports of a tropical condition observed in man in Cambodia, the Laos States and Siam, by Jeanselme, and called by him „*Nodosités juxta-articulaires*“, and by Steiner in Java, and referred to as „*Nodosités, multiple, sous-cutanées, dures et fibreuses, chez les Malais*“, I wish to present a short account of certain similar tumors that I found in cattle in the Philippine Islands. In making this report in this connection, I do not wish it to be thought that I believe the two varieties of tumors are identic. They may or may not be. However, the similarity is so marked in certain respects that a comparison is merited if only from the stand point of general comparative pathology.

The growths that I wish to describe were first brought to my attention in the case of a chinese cow that had been sent to the Biological Laboratory in Manila with a request for an examination for actinomycosis. At a distance the animal presented the appearance of the suspected disease very closely. Several nodular tumors projected, as rounded masses of varying sizes, above the surface of the skin of the head. One of these, just above the angle of the mouth, and another, over the ramus of the lower jaw, had ruptured and was discharging a yellowish, purulent, foulsmelling, material. Others, situated over the inferior and superior maxillae on both sides, and one behind the left ear, were very firm in consistence and were intact. All were subcutaneous and not adherent to the underlying bones. In none was fluctuation detectable.

In the material discharged from the two ruptured tumors no actinomyces were to be found in either fresh or stained preparations. There were a few large degenerated cells, some leucocytes, and many cocci which could be demonstrated by Gram's method of staining. In smears stained with dilute (1—10) carbol-fuchsin, or with Loeffler's methylene blue, a few thin, rather short, bacilli which usually showed a beaded staining (and which also appeared in specimens stained with gentian violet and differentiated with pure anilin oil), could be seen.

One of these intact nodules was excised, and later incised under aseptic conditions. It was composed of a very dense, thick, fibrous, outer coat, within which was a cavity containing a small amount of greenish-yellow, thick, creamy, material, and with none of the so-called „sulphur bodies“ of actinomycosis.

Cultures on agar and blood serum were made from this pus, and about a quarter of the mass of the nodule was implanted beneath the skin of a monkey (*M. cynomolgus*). The rest of the tissue was placed in Zenkers fluid for later histological examination.

At the end of a week no growth had occurred upon the cultures, which had been kept in the incubator at 37 deg. C. They were accordingly sealed with rubber caps and set aside at room temperature

(22—28 deg. C.). After nearly a month there appeared, between the partially dried inoculated material, a fine granular, greyish growth, which was composed of very minute colonies of short, thin, rods, some of which stained very evenly, and others quite unevenly. These were readily stained by the ordinary dilute anilin colors, and by the gentian violet-iodine-anilin oil method when differentiation was carefully accomplished. The methods of Gram and of Ziehl were, however, not effective. They were in no sense acid-resisting for they were readily decolorized by dilute ($\frac{1}{4}\%$) acetic acid.

The tissue imbedded under the skin of the monkey was gradually absorbed, the animal suffering no noticable inconvenience meanwhile.

The affected cow was kept under close observation for about six weeks, during which time she showed no marked change in physical condition. New tumors, however, appeared, — one on the left knee, one just below the larynx, and one, in the submaxillary region, which apparently originated in a lymph gland.

Later the animal was killed and a complete autopsy done, with the result that no other tumors than the ones described were found. All of the nodules were in close connection with the skin; none of them were in any sense adherent to periosteum or bone; all were composed of a very dense fibrous tissue, and all showed a central cavity filled with thick, creamy, greenish-yellow pus. The internal organs showed no macroscopic changes, and none of the lymph glands were affected except the submaxillary one mentioned above.

Cultures were made, as before, on glycerine agar and blood serum. By the end of a week, at body temperature, a faint granular growth appeared at the points where the loop had touched the medium and at the end of several weeks there was a but slightly perceptible increase. The organisms composing these growths were similar to the ones obtained in the first cultures. Transplants into milk, bouillon, and glucose and lactose containing media gave no results. On glycerine agar alone could any growth be obtained after transplantation and then only for one generation: further transplantations were unsuccessful. Cultures kept under anaerobic conditions fared no better.

The only fact discovered concerning this organism were that it was non-motile, not acid-resisting, and not stained by Gram's method. It exhibited a beaded appearance when stained with carbol-thionin or 1—10 carbol-fuchsin. It did not grow under anaerobic conditions, and was not pathogenic for the monkey. Growth was slow and uncertain under the best conditions afforded.

Two other cattle were observed suffering from this same condition. Each showed small swellings on the sides of the head. On one was a tumor the size of a fist and somewhat adherent to the bone. This mass had a small area of fluctuation, but no sinus. It was excised and at operation was found to be adherent to the periosteum. The whole of the excised mass was composed of dense fibrous tissue in which were small cavities. The largest of these, and the one that had given rise to the feeling of fluctuation, was filled with a greenish-yellow pus. Smears from which showed a mixture of staphylococci, streptococci, and small rods resembling those found in smears from the first case.

The smaller cavities contained a dark brown, mucoid material, and smears from this showed only slender, beaded rods. Cultures from these

cavities gave no growths even after a long sojourn in the incubator, and at room temperature.



Fig. 1. Section through the papillary layer of the growth. Hematoxylin and eosin. Zeiss obj. AA. oc. 4. Photomicrogr. by Martin.

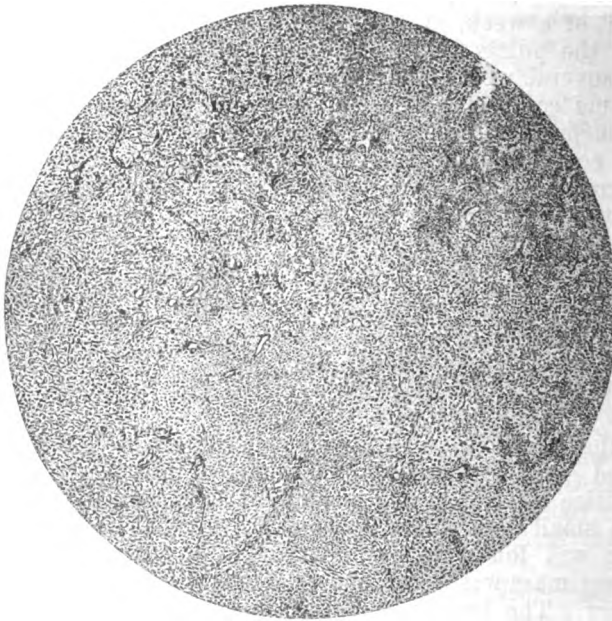


Fig. 2. Section from the middle layer. Hematoxylin and eosin. Zeiss obj. AA. oc. 2. Camera lucida.

Examination of material from the third case resulted in no further disclosures.

Tissue from the three cases was utilized for microscopic examination. Sections from this were stained with polychrome methylene blue, thionin, hematoxylin and eosin, safranin, and with gentian violet with subsequent decolorization with anilin oil before or after treatment with iodine solution. A low power of the microscope (Zeiss obj. AA. oc. 2), (Fig. 1) showed the walls of the nodules to be composed of a very dense, rather hyaline, fibrous tissue, with an inner zone of well developed granulation tissue. (Fig. 2.) This layer of granulation tissue was somewhat papillated and in the centres of these papillae the blood vessels ran, surrounded by areas of small round cell infiltration. The periphery of the papillae was composed of epithelioid cells, with pale vesicular nuclei and abundant protoplasm, and with some showing karyokinesis. The external layer of the tumor, that which comprised the bulk of the growths, was more

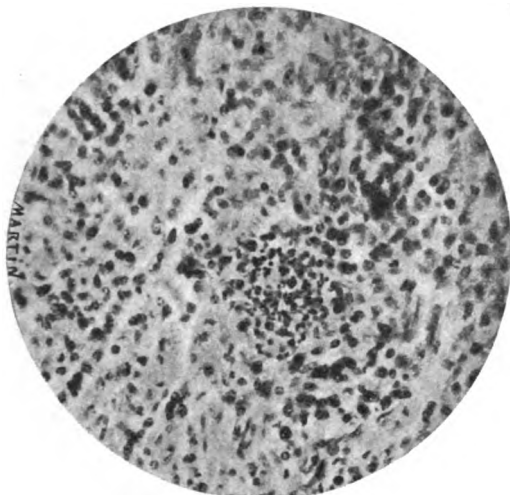


Fig. 3.

Fig. 3. Island of leucocytes in the papillary layer. Photomicrogr. by Martin.

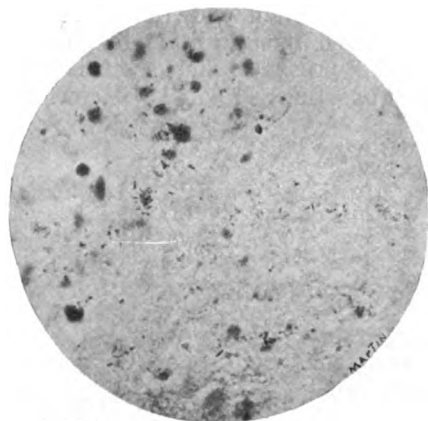


Fig. 4.

Fig. 4. Papillary layer. Bacteria stained with gentian violet and iodine, differentiated with anilin. Zeiss homog. immers. $\frac{1}{12}$. Photomicrogr. by Martin.

hyalin than cellular and the blood vessels that supplied it were surrounded by formative cells which decreased in number as the most external parts were approached. Higher powers of the microscope (Zeiss obj. DD. oc. 4) showed plainly the granulation tissue structure of the tumors, and also showed scattered through the tissue of the inner zones, numbers of leucocytes, sometimes single, sometimes in small collections. (Fig. 3.) In carefully stained sections large numbers of intra- and extra-cellular organism could be seen, especially in the papillary layer of the tissue. These were similar in their morphology to those found in smears from the fresh pus and from cultures. (Fig. 4.)

The tumors appear to be granulomata due to an organism which is similar in its morphologic structure to the glanders or diphtheria bacillus, which is cultivated in vitro only with the greatest difficulty, and which by its presence in the tissues causes suppuration, and by its secretions brings about the proliferation of the connective tissue elements with subsequent fibrosis.

The condition described above resembles in some respects the one referred to by Lignières and Spitz, and Nocard and Leclainche as Actino-bacillosis. The nodules of this present lesion are not soft however and they do not contain the organisms described by Lignières and Spitz. The tumors that these authors described have a marked predilection for the skin, and the adjacent lymph glands are prone to be involved, but the lesions are seldom on the maxillae.

The similarity between the tumors found in the Philippine cattle and those described by Jeanselme and Steiner, exists in their location at points of pressure or friction, in their location first in the subcutaneous tissue, and later in connection with the integument, and in their macroscopic appearance and general anatomic structure. It is possible that a further similarity exists in their tendency to ulcerate, and cicatrize. The chief difference between them is due to the presence of a peculiar bacterium in the lesion in cattle.

I might add that since coming to Siam I have several times observed the condition to which Jeanselme alludes, but have not up to the present time seen it undergoing resolution, nor have I had an opportunity to make bacteriologic or histologic examination in any case.

Bibliography.

- Lignières and Spitz, L'Actinobacillose. (Rec. de méd. vétér. T. IX. 1902. p. 546.)
 Nocard and Leclainche, Les maladies microbiennes des animaux. Paris 1903.
 Jeanselme, Des nodosités juxta-articulaires etc. (Arch. f. Schiffs- u. Tropenhyg. 1906. X. 5.)

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über Syphilis.

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin (Vorstand: Geh. Reg.-Rat Prof. F. E. Schulze).]

II. Der Erreger der Syphilis¹⁾.

Von J. Siegel.

Mit 4 Abbildungen im Text und 5 Tafeln mit 14 Figuren.

In Heft 5 und 6 dieses Jahrganges des Centralblattes für Bakteriologie hatte ich über die Impfsyphilis der Affen berichtet und unter Beilegung einer größeren Zahl von Abbildungen meine Resultate demonstriert. Dabei wurden auch andere Punkte der experimentellen Syphilis gestreift, auf die Erregerfrage aber nicht tiefer eingegangen. Ich habe die Veröffentlichung dieses zweiten Abschnittes absichtlich so lange hinausgeschoben, weil so manche der zu besprechenden Fragen noch nicht genügend aufgeklärt waren. Vor allem mußte die Spirochäthentheorie erst erledigt sein, deren Widerlegung sofort nach ihrem Auftreten in meinem Laboratorium von mir und meinen Mitarbeitern in Angriff genommen wurde; siehe die diesbezüglichen Veröffentlichungen von W. Schulze, Saling und Jancke. Nunmehr scheinen mir aber die Kontrolluntersuchungen über

1) Einen Teil des Inhalts vorliegender Arbeit hatte Verf. Gelegenheit, im September d. J. während der Versammlung Deutscher Naturforscher u. Aerzte in Dresden und des Internationalen Kongresses für Hygiene u. Demographie in Berlin vorzutragen

die *Spirochaete pallida* so weit gediehen zu sein, daß ein abschließendes Urteil möglich ist. Andererseits habe ich bei fortgesetzter Bearbeitung der Cytorrhyses-Frage manche früher nicht genügend geklärte Verhältnisse jetzt deutlicher erkennen können.

Eine besondere Eile schien mir überhaupt bei diesem Thema nicht geboten. Ich halte die zeitweise sich geradezu überstürzenden Veröffentlichungen über die *Spirochaete pallida* durchaus nicht geeignet, ein so sprödes Thema, wie die Syphilisätiologie es nun einmal ist, zu bewältigen. Hat die Aufklärung der Syphilisätiologie jahrzehntelang allen Versuchen Widerstand geleistet, so mußte eine plötzlich hereinbrechende fast allgemeine Anerkennung einer Theorie im höchsten Grade Verdacht erwecken.

Die weiteren Ausführungen werden zeigen, wie richtig die Zurückhaltung war, andererseits wird zugleich klar werden, daß die Cytorrhyses-Studien bis zu ihrer vollständigen Ausarbeitung noch einer längeren intensiven Forschung bedürfen, wobei vorurteilsfreie, vor keiner Schwierigkeit zurückschreckende Mitarbeit dringend erforderlich ist.

Bei weitem die meisten der im Laufe der letzten Jahrzehnte aufgestellten Erreger der Syphilis gehören den Bakterien an, und zwar ist es von den drei Ehrenbergschen Hauptgruppen je ein Vertreter, der sich mehr oder minder längere Zeit der allgemeinen Beachtung erfreute. Birch-Hirschfeld fand regelmäßig in Primäraffekten, Kondylomen und Gummi ebenfalls in sämtlichen 12 untersuchten gummösen Herden verschiedener Organe dieselben Kokken. Er beschreibt sie als nicht rund, sondern längsoval. Sie machen, wenn sie zusammenliegen, den Eindruck von plumpen Stäbchen. Zur Färbung empfiehlt er wässrige Fuchsinlösung. Er bezeichnet es „als sehr wahrscheinlich, daß diese Mikroorganismen in der Tat die Träger des syphilitischen Kontagiums sind“. Bei den Zeitgenossen scheinen sie wohlwollende Aufnahme gefunden zu haben. Auch Neisser rechnet mit ihnen bei der Besprechung der Infektiösität der gummösen Massen.

1885 behauptete Lustgarten, welcher unter Weigerts bewährter Leitung arbeitete, einen nur durch ein besonderes tinktorielles Verfahren nachweisbaren Organismus aus der Gruppe der Bacillen gefunden zu haben, der ein konstantes und kontinuierliches Attribut aller echt syphilitischen Produkte sei. Diese Bacillen fanden eine Zeitlang fast allseitig geteilte Annahme. Doutrelepont zeichnete sich ganz besonders bei dem Nachweis derselben aus. Er fand sie sogar mehrere Male im Blute Syphilitischer. Als Alvarez und Tavel den Nachweis führten, daß es sich um ubiquitäre Smegmabacillen handle, war die Begeisterung für die Lustgartensche Entdeckung doch noch so groß, daß viele Autoren, unter ihnen wieder besonders Doutrelepont, zwar die Einschränkung der Bedeutung in diagnostischer Beziehung zugaben, aber an der ätiologischen Rolle festhielten. Nach 1887 sagte Doutrelepont: „Die Gegenwart dieser Bacillen in allen Stadien, an allen Körpergegenden, sogar im Blute kann durch die Entdeckung der Smegmabacillen nicht erschüttert werden“¹⁾. Auch Lesser erklärte in demselben Jahre als „im höchsten Grade wahrscheinlich, daß diese Bacillen wirklich das Gift der Syphilis darstellen“, und noch 1901 war der feste Glaube an den

1) Wolters scheint diese Arbeit nicht zu kennen, sonst hätte er nicht in der Mediz. Klin. 1907 das strikte Gegenteil über Doutreleponts Beteiligung an der Lustgarten-Bacillenforschung behauptet.

Lustgarten'schen Bacillus bei vielen Dermatologen so wenig erschüttert, daß z. B. Moses Léon erklären konnte: „Wir werden uns durch die kleine Gruppe ablehnender Autoren in unserem Urteil über das Vorhandensein und die Bedeutung der Lustgarten'schen Bacillen nicht beirren lassen“. Doch die Zeit ging über diese anscheinend unerschütterliche Ueberzeugung achtlos hinweg, und mit derselben Begeisterung wurde vor 3 Jahren ein Organismus aus der dritten Hauptgruppe der Bakterien, der Spirillaceen, auf den Schild erhoben. Es ist als eine gewisse Ironie des Schicksals zu bezeichnen, daß auch dieses Mal in der Reihe der Verfechter der neuen Theorie dieselben Namen gefunden werden. Wiederum wird mit derselben Sicherheit festgestellt, daß jetzt die *Spirochaete pallida* der endlich gefundene Erreger der Syphilis sei.

Ueber die *Spirochaete pallida* ist bereits seit 3 Jahren so viel geschrieben und geredet worden, und es ist durch hunderte von sogenannten Bestätigungen ihre Erregernatur angeblich immer wieder zweifellos festgestellt, daß man annehmen sollte, diese Frage wäre nun endlich entschieden, besonders da diese Bestätigungen schon gleich im Anfang von anscheinend zuständiger Seite ausgingen (Institut für Infektionskrankheiten, Frosch, Mühlens, Hartmann). Doch es stellt sich immer mehr heraus, daß hier wiederum in ähnlicher Weise wie bei der voreiligen Aufnahme des Lustgarten'schen Bacillus mehr der Autoritätsglaube als wirkliche Beweise diesem Bakterium zur Anerkennung verholfen haben. So konnte es denn nicht ausbleiben, daß nach gründlicher Abwägung sämtlicher Gründe pro et contra die Entscheidung gegen die *Spirochaete pallida* als Erreger ausfallen mußte. Ich kann in folgenden Ausführungen nicht alle einzelnen hierher gehörenden Arbeiten berücksichtigen¹⁾, das würde zu weit führen, und auch jetzt, nachdem in den letzten beiden Jahren genügend Material herbeigeschafft ist, um klar sehen zu können, überflüssig sein. Es soll nur auf die entscheidenden Gesichtspunkte, die aus dem Konvolut der Meinungen sich herauschälen lassen, Rücksicht genommen werden.

Zunächst ist Stellung zu nehmen zu der Frage, ob die Spirochäten im allgemeinen, und somit auch die *Spirochaete pallida*, Protozoen oder Bakterien sind. Man könnte einwenden, das sei ein nebensächlicher, zur Entscheidung der Erregernatur gleichgültiger Punkt. Doch ich werde zeigen, daß dieser Frage in der Geschichte dieser ätiologischen Forschung eine nicht zu umgehende Bedeutung beigemessen werden muß.

Die vergeblichen, seit dem Beginn der bakteriologischen Aera immer wieder in Angriff genommenen Versuche, bei einer bestimmten Gruppe von Krankheiten Bakterien als Erreger nachzuweisen, hatten dazu geführt, für diese Gruppe ganz besondere ansteckende Prinzipien anzunehmen. Auf Grund einer Reihe gemeinsamer Eigenschaften, von denen vor allem die Art der Ansteckung und der klinische Verlauf auffiel, hatte man diese Gruppe, zu der man besonders Masern, Scharlach, Pocken und Syphilis rechnete, als rein kontagiöse bezeichnet. Daß Bakterien bei diesen Krankheiten keine Rolle spielen sollten, kommt zum Ausdruck in der Meinung Behrings, der es nicht für unmöglich hält, daß es sich bei der Syphilis und den Pocken gar nicht um Infektion durch Parasiten handle, sondern um Uebertragung eines von „außen

1) Vor allen Dingen können die vielen angeblich unparteiischen zusammenfassenden Referate von Spirochätenanhängern, die meistens eine ganz oberflächliche Kenntnis der Materie verraten, nicht in den Kreis der Betrachtung gezogen werden.

stammenden Stoffes“. Aehnliche Anschauung vertrat auch Rosenbach. Er spricht bei der Aetiologie der Syphilis von einer Noxe, die seiner Meinung nach kein Mikrobium, sondern ein aktiver, gelöster oder wahrscheinlich flüchtiger Eiweißkörper sei. Martius äußert, es sei wahrscheinlich, daß die spezifischen Erreger der akuten Exantheme, zu denen er auch die Syphilis rechnet, „alles andere eher als ein Bakterium sein würden“. In den letzten Jahren, nachdem die Protozoen (Malariaplasmodien, Trypanosomen, Piroplasmen) in der menschlichen und tierischen Pathologie eine so große Rolle zu spielen anfangen, kann man fast in jeder Arbeit über die Aetiologie der Syphilis die Ansicht vertreten finden, daß das gesuchte Agens ein Protozoon sein müsse¹⁾.

Diesem aus dem langjährigen vergeblichen Suchen nach einem Bakterium bei Syphilis allmählich zu einer festeren Form herausgebildeten Desiderat kam nun Schaudinn entgegen mit der Behauptung, daß die neben vielen anderen Bakterien in syphilitischen Produkten verhältnismäßig oft vorkommenden und nicht allzuschwer nachweisbaren Spirochäten nicht Bakterien seien, wie man bisher annahm, sondern echte Protozoen. So war es möglich, daß man mit einer wahren Begeisterung die angeblichen Spirochätenprotozoen als die Erreger akzeptierte, indem man ihr bloßes Vorkommen in syphilitischen Produkten, die jeglicher saprophytischen Invasion ausgesetzt waren, für eine ausreichende Legitimation hielt, was man einem Bakterium jedenfalls versagt hätte. Man legte dem „Protozoon“ einen gewissen mystischen Nimbus bei, was um so leichter vorkommen konnte, als vielen Medizinnern eigentümlicherweise mit dem Begriff Protozoon etwas Rätselhaftes verbunden zu sein scheint, und verzichtete auf jede genaue Prüfung seiner ätiologischen Präension. Besonders in den Arbeiten aus dem Jahre 1905, z. B. von Herxheimer, Lesser u. A., findet man fast regelmäßig den ausdrücklichen Hinweis darauf, daß die *Spirochaete pallida* nicht ein Bakterium, sondern ein Protozoon sei, immer wiederholt. Wir finden in der der *Pallida* vindizierten Protozoeneigenschaft geradezu eine suggestive Potenz, die auf die Masse der Mediziner von ganz außergewöhnlicher und in späterer Zeit wohl kaum verständlicher Wirkung sich äußerte. Es scheint daher der Nachweis, daß Schaudinns Ansicht von der Protozoennatur der Spirochäten, die unter anderen Umständen von ziemlich nebensächlicher Bedeutung gewesen wäre, eine falsche war, einer gründlicheren Erörterung bedürftig.

Schaudinn hatte 1904 die bekannte Arbeit über den Generations- und Wirtswechsel bei Trypanosomen und Spirochäten geschrieben. Dieselbe enthielt so viele neue, bisher ungeahnte Zusammenhänge, sie zeigte so viel neue Ausblicke, daß sie das allergrößte Aufsehen erregte. Die Anhänger Schaudinns datieren seit dem Erscheinen dieses Aufsatzes eine ganz neue Ära der Protistenkunde. Der erste Teil enthält den Entwicklungskreis des *Haemoproteus noctuae* (Halteridium), in dessen Entwicklung Schaudinn ein Trypanosomenstadium einfügte. Er nannte den Parasiten deswegen *Trypanosoma noctuae*.

1) Ich erinnere auch hier, wie schon in früheren Arbeiten, an die ganz erstaunliche Aehnlichkeit des klinischen und pathologisch-anatomischen Krankheitsbildes der Syphilis mit einer ganzen Reihe von anerkannten Trypanosomiasen und Piroplasmosen, besonders der Dourine des Pferdes. Es stellt sich immer mehr heraus, daß das Wesen der Immunität nichts anderes ist, als das gerade bei Protozoenerkrankungen nachweisbare dauernde Verbleiben der Parasiten in infizierten Körpern, wie bei der Syphilis wahrscheinlich auch.

Bald jedoch stellte es sich heraus, daß diese Schaudinn'sche Entdeckung auf einem Irrtum beruhte. Novy und Mac Neal, die bekannten amerikanischen Trypanosomenforscher, fanden, daß Schaudinn die neben dem *Haemoproteus* bei Vögeln sehr häufig beobachteten Blutschmarotzer, die Trypanosomen, übersehen, und auf diese Weise irrtümlich mit dem Entwicklungskreis des *Haemoproteus* verflochten hatte. Da das amerikanische *Journal of infectious diseases* in Deutschland nicht gerade sehr bekannt ist (in der königlichen Bibliothek zu Berlin ist es nicht vorhanden), blieb diese sehr gründliche und überzeugende Arbeit der Autoren, die, wie sie selbst angeben, die Nachprüfung begannen, in der Absicht, Schaudinn's neue Theorie zu bestätigen, in Deutschland anscheinend ziemlich unbekannt.

Im zweiten Teil der Schaudinn'schen Arbeit, der über das Leukocytozoon Ziemanni — von Schaudinn Spirochaete Ziemanni genannt — handelt, wollte der Autor festgestellt haben, daß im Entwicklungsgang dieses Blutschmarotzers ein Spirochätenstadium vorkäme, und zwar sowohl im Eulenblut wie im Darm des das infizierte Eulenblut saugenden *Culex pipiens*. Die im Mückendarm gesehenen Spirochäten hielt er demnach für Protozoen und verallgemeinerte sogleich seine Schlußfolgerungen, indem er nunmehr sämtliche Spirochäten für Protozoen, und zwar für ein Entwicklungsstadium eines bei den meisten noch unbekannten Leukocytozoonstadiums erklärte. Schaudinn glaubte hiermit den phylogenetischen Zusammenhang zwischen Bakterien und Protozoen gefunden zu haben und wurde von der Idee der Protozoennatur der Spirochäten in seinen Gedankengängen derartig beherrscht, daß er nunmehr überall bei Infektionskrankheiten mit noch nicht aufgeklärter Aetiologie auf Spirochäten fahndete. So suchte er z. B. bei Texasfieber in den Entwicklungskreis der Piroplasma Spirochäten einzuschieben und empfahl, beim gelben Fieber sehr eindringlich das Augenmerk gerade auf Spirochäten zu richten. In diese Periode seiner wissenschaftlichen Entwicklung fiel nun die Beobachtung, daß unter den vielen Saprophyten syphilitischer Produkte auch Spirochäten zu finden waren, und es tauchte in ihm nunmehr mit zwingender Gewalt die Idee auf, daß diese Bakterien, die er ja für Protozoen hielt, die vielgesuchten Erreger sein müßten¹⁾.

Die nachprüfenden Arbeiten haben nun ergeben, daß Schaudinn auch in dem zweiten Teil seiner Arbeit über den Generations- und Wirtswechsel von Trypanosoma und Spirochäte einem verhängnisvollen Irrtum zum Opfer gefallen war, und daß somit alle die kühnen Schlußfolgerungen, welche sich an dieselben knüpften, hinfällig sind. Die Gebrüder Edm. und Ét. Sergent haben kürzlich das Resultat ihrer mehrjährigen Arbeit über diesen Gegenstand veröffentlicht. Sie kommen zu folgenden Schlußfolgerungen: Im Blut der Eulen kommen sehr zarte Trypanosomen vor, die Schaudinn für Entwicklungsstadien der Leukocytozoen hielt. Es ist ferner ein Irrtum, wenn Schaudinn die Mückenart *Culex pipiens* als Ueberträger des Leukocytozoon noctuae bezeichnet. Die im Darm dieser Mücke vorkommenden Spirochäten sind echte Bakterien, die nichts mit den im gesogenen Blut eventuell vor-

1) Bezeichnend für die stark suggestive Kraft der Schaudinn'schen Spirochätenhypothese ist auch die Bemerkung von Mühlens und Hartmann, daß es gelungen sei, die angebliche Spirochäte Ziemann's im Institut für Infektionskrankheiten zu züchten.

kommenden Leukocytozoen zu tun haben. Sie werden als Darmschmarotzer auch bei solchen Mücken bemerkt, die nicht leukocytozoenhaltiges Blut gesogen haben. Es hat sich außerdem gezeigt, daß Spirochätenbakterien als Darmschmarotzer der Insekten nicht allein bei Mücken gefunden werden, sondern auch in Mücken- und anderen Larven (Laveran und Jaffé).

Außer diesem, wie wir sahen, mißlungenen entwicklungsgeschichtlichen Beweis der Protozoennatur der Spirochäten versuchten Schaudinn und seine Anhänger die tierische Stellung derselben plausibel zu machen durch den angeblichen Nachweis eines protozoenähnlichen Kernapparates, der Längsteilung, einer undulierenden Membran¹⁾ und der Selbstbefruchtung (v. Prowazek). Von diesen Eigenschaften habe ich selbst in eigens darauf gerichteten Untersuchungen bei *Spirochaete dentium*, *pallida*, *Balanitidis*, *Tickfieber*, *Recurrans*, *Hühnerspirillose* nichts finden können. Doch will ich darauf nicht allzu großes Gewicht legen, da mein Urteil als partiisch nicht vollwertig erscheinen könnte. Ich will aber erwähnen, daß die Untersuchungen von Bütschli, Koch, Zettnow, Thesing, Levaditi und Manuélian, Kraus (Wien), Benda, Sobernheim, Borrel, Woodcock, Wenyon, Tunnicliff u. A. sämtlich zu der Ueberzeugung geführt haben, daß es sich um Bakterien handelt. Ganz besonders aber möchte ich auf die sehr eingehenden Untersuchungen Swellengrebel's hinweisen, die auch zu dem Schlusse führen, daß Schaudinn's Auffassung eine irrthümliche und unbegründete ist. Nebenbei will ich auch erwähnen, daß die Beer-Hoffmannsche Beobachtung des Lebenbleibens der *Pallida* durch 6 Monate unter dem Deckglas, die Mühlensschen Kulturen von *Spirochaete dentium* auf festem Nährboden, der von Benda und Zabel durch Ausstreichen konservierter Organe gelungene Nachweis von Spirochäten in unverändertem Zustande, sowie die von Schaudinn und Eitner nachgewiesene Schädigung der *Pallida* durch Glycerin eher für die Bakteriennatur der Spirochäten sprechen. v. Prowazek und Neufeld glaubten in der mangelnden Resistenz der Spirochäten gegen taurocholsaures Natrium ein Indizium ihrer Protozoennatur zu sehen, sie meinten, daß Bakterien, mit Ausnahme der Pneumokokken, sich in diesem Medium nicht auflösten; aber Mandelbaum und Levy fanden bald, daß auch andere Bakterien, z. B. der *Diplococcus lanceolatus* und der *Streptococcus mucosus*, sich ebenfalls auflösen. Der Eitnersche und der Beer-Hoffmannsche Versuch sprechen, nebenbei gesagt, außerdem gegen die Auffassung, daß die *Pallida* der Erreger der Syphilis sei, denn das Syphilisgift ist resistent gegen Glycerin (Metschnikoff, Siegel), und monatelanges Lebenbleiben der *Pallida* unter dem Deckglas widerspricht der Erfahrung des schon nach einigen Stunden eintretenden Aufhörens der Infektiösität syphilitischen Materials außerhalb des Körpers.

Trotzdem nun also als erwiesen gelten kann, daß es Schaudinn nicht gelungen ist, die alte Ehrenbergsche Klassifizierung der Spirochäten als Bakterien zu erschüttern, suchen Hartmann, Mühlens und v. Prowazek, die zugleich mit besonderem Eifer die Erregernatur der *Spirochaete pallida* verfechten, immer wieder die Protozoen-

1) Um diese angebliche undulierende Membran zu zeigen, wurden sogar Photographie retouchiert, ein Verfahren, das bisher bei wissenschaftlichen Reproduktionen nicht als zulässig galt (s. Arb. kais. Ges.-A. 1907. Heft 1. Taf. II, 12b).

natur der Spirochäten zu erhärten, indem sie auf die angeblich gesehene undulierende Membran, Längsteilung und Selbstbefruchtung hinweisen. v. Prowazek will auch angebliche Ruhestadien als Protozoenbeweis ins Gefecht führen. Diese Formen werden aber von Levaditi für nichts anderes als Degenerationsformen gehalten. Man sieht jedenfalls aus dem Eifer, mit dem von manchen Anhängern der *Spirochaete pallida* ihr Protozoencharakter immer wieder betont wird, daß es ihnen bewußt ist, wie viel in der Beurteilung der ätiologischen Stellung der *Spirochaete pallida* als Erreger von dieser Frage abhängt.

War doch auch die Polymorphie eines Protozoons Voraussetzung der Annahme einer unbekannten, unserer mikroskopischen Untersuchung unzugänglichen Entwicklungsform, die für alle diejenigen Fälle in Anspruch genommen werden dürfte, in denen bei echter Syphilis Spirochäten fehlten (Neisser, Nobl, Sternberg und viele Andere). Es wird damit zugleich dokumentiert, daß mein etwas tieferes Eingehen auf diese Frage, ob die Spirochäten Bakterium oder Protozoon sind, für die allgemeine Erregerfrage wohl berechtigt war.

Nachdem somit der Beweis erbracht ist, daß die Protozoenzugehörigkeit der *Spirochaete pallida* zu Unrecht verliehen war, damit also eine wichtige Legitimation als Syphiliserreger verloren ging, erhebt sich die Frage, haben wir es bei der *Spirochaete pallida* wenigstens mit einem Bakterium zu tun, das sich durch irgend ein Charakteristikum scharf von den anderen unterscheidet, so daß es in Konkurrenz mit anderen Bakterien in syphilitischen Produkten sich als etwas ganz Besonderes und daher vielleicht besonders Bemerkenswertes abhebt. Hierbei würde die weitere Frage, ob ein so besonders morphologisch ausgezeichnetes Bakterium nun der Erreger sei, vorläufig nicht berührt. Wir werden sehen, daß besondere immer wiederkehrende Eigenschaften der *Pallida* nicht zukommen.

Zunächst fällt die Kultur als unmöglich fort. Der Hauptbeweis der biologischen Spezifität ist also von vornherein ausgeschlossen. Ferner finden wir Angaben über besondere Färbungseigenschaften. Wenn dieselben so charakteristisch wären, wie etwa die der Tuberkelbacillen, ließe sich damit etwas, aber nicht allzuviel, anfangen. Aber so liegt die Sache nicht. Es wird nur, besonders in der ersten Zeit, berichtet, die *Pallida* zeichne sich vor allen anderen Spirochäten durch einen bei Giemsa-Färbung hervortretenden rötlichen Ton aus, während die anderen sich mehr blau färben. Diese besondere Nüance in der Färbung als Charakteristikum hat sich aber bald als hinfällig erwiesen. Denn wer sich mit der Giemsa-Färbung beschäftigt, wird bald inne werden, daß aus diesem Farbstoffgemisch aus rot und blau je nach der Intensität der Einwirkung bald die eine, bald die andere Farbe mehr hervortritt, und zwar nicht allein bei der sogenannten *Pallida*, sondern auch bei den anderen Spirochäten. Ferner wurde hervorgehoben die ganz besonders schwere Färbbarkeit der *Pallida* im Gegensatz zu anderen Spirochäten; Schaudinn nannte sie daher *Pallida*. Es soll zugegeben werden, daß viele Formen der Spirochäten in syphilitischen Produkten, besonders die zarteren, erst nach einer längeren Einwirkung des Farbstoffes sich tingieren lassen; besonders in den macerierten Organen bakterienhaltiger syphilitischer Föten findet man die Spirochäten oft erst nach 24-stündiger Färbung. Aber das ist nicht regelmäßig der Fall. Es gelingt nicht selten, sie in den Organen eines zweiten syphilitischen Fötus schon nach 1-stündiger Behandlung mit demselben Farbstoff sichtbar zu machen.

Allen Individuen der Art kommt also diese schwere Färbbarkeit nicht zu, es liegt vielmehr nach Analogie der bei anderen Bakterien bestehenden Verhältnisse an dem Alter und den übrigen wechselnden Vegetationszuständen. Bekannt ist ja, daß die „Kummerformen“ bei Fadenpilzen und Bakterien sich nur äußerst schwierig färben lassen.

Als weiteres Charakteristikum der Pallida war die regelmäßige Aufwicklung dieser Spirochäte von Schaudinn angegeben. Er sprach von korkzieherartigen starren Windungen. Diese Charakteristik mußte bei einem in dauernder Beweglichkeit befindlichem Bakterium schon von vornherein etwas befremden, doch wurde diese Idee von v. Prowazek und Hoffmann sowie Mühlens und Hartmann noch weiter ausgeführt. Diese Autoren haben mit der größten Akribie sogar die Winkel und die Höhenverhältnisse der einzelnen Kurven zahlenmäßig zu bestimmen gesucht. Wenn diese Fixierungsmöglichkeit richtig gewesen wäre, so hätte man allerdings ein Mittel in Händen gehabt, sich vor Verwechslungen mit den lästigen, sich überall einmischenden ubiquitären Refringens-Formen zu schützen. So nannte nämlich Schaudinn eine zweite, in syphilitischen Produkten sich häufig einstellende Spirochätenform, die allerdings etwas dicker sein und mehr flache Windungen zeigen sollte (nebenbei sei erwähnt, daß Schaudinns erste in den Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt veröffentlichte Photographie der Pallida nach den später von ihm selbst aufgestellten Kriterien beurteilt, sich als echte Refringens charakterisiert). Doch diese für die Pallida kaum aufgestellten Kriterien ließen die Autoren selbst wieder sehr bald fallen. In den syphilitischen Organen der Neugeborenen fanden sich meistens Formen mit mehr oder weniger flachen Windungen, also Refringens-Formen, und da man doch unmöglich zugeben konnte, daß in den untersuchten inneren Organen alle möglichen Saprophyten vorkämen, wurde nun ein vermittelnder neuer, weniger strenger Typus der Pallida aufgestellt. Mühlens, derselbe Autor, der soeben erst durch die genauesten Abmessungen der Windungsverhältnisse der Pallida einen strengen Typus fixiert hatte, nannte diese die „Mittelform mit flachen Windungen“ und v. Prowazek „die Depressionszustände“ der Pallida, ohne dabei zu bedenken, daß nunmehr die ganze Schaudinnsche, mit vieler Mühe aufgestellte Artcharakteristik hinfällig wurde, und es jetzt jedermann freistehen mußte, die Pallida als nichts anderes aufzufassen, als eine Erscheinungsform der gewöhnlichen saprophytischen Spirochäte, die Schaudinn Refringens nannte. Konsequenterweise erklärt daher Stern die Pallida für eine Entwicklungsform der Refringens, da beide regellos durcheinander im Leben vorkommen¹⁾. Das war eigentlich von vornherein die wahrschein-

1) Sterns Auffassung sei wegen ihrer Bedeutung — die Arbeit stammt außerdem aus dem letzten Jahre — wörtlich wiedergegeben.

„Die Möglichkeit, im Gewebsschnitte, der nach Levaditi gefärbt ist, *Spirochaete pallida* lediglich nach den Dickenverhältnissen zu unterscheiden von *Sp. refringens*, halte ich nach meinen Erfahrungen im gegenwärtigen Zeitpunkt für ausgeschlossen. Ich verfüge über Präparate aus zweifellos syphilitischen Lebern mit Spirochäten, bei denen regellos durcheinander stärker ausgebildete Exemplare mit schwächer entwickelten gemischt liegen, so daß eine Unterscheidung — ob Refringens oder Pallida gar nicht möglich ist. Auch in den Dreyerschen Präparaten, die ich wiederholt einzusehen Gelegenheit hatte, ist meines Erachtens eine Unterscheidung nicht möglich. Auch beim Studium meiner nun doch reichlich ein paar Hunderte ausmachenden Ausstrichpräparate bin ich wiederholt auf Uebergangsformen gestoßen, so daß mir der sichere Beweis dafür, daß Refringens und Pallida wirklich so ver-

lichste Lösung, denn bei sämtlichen Spirochäten, auch bei den menschlichen Blutparasiten, z. B. den Rekurrensspirochäten, findet man dicke und schlanke, eng gewickelte und mehr gestreckte Formen schon seit langer Zeit. Auch konnte Prowazek ebenso wenig wie Castellani sichere morphologische Unterschiede zwischen *Spirochaete pallidula* (*Framboesia trop.*) und *Spirochaete pallida* feststellen. Demnach müßten die bei *Framboesia tropica* gefundenen Formen auch als *Pallida* gelten. Man sehe sich daraufhin die Fig. 19—22, Taf. IV der Arbeiten aus dem kaiserlichen Gesundheitsamt 1907, Heft 1 an. Wenn man außerdem die Figuren No. 25 und 26, Taf. IV, die als Depressionszustand oder gar als Autogamie (!) der *Pallida* beschrieben werden, berücksichtigt, so wird man unwillkürlich denken, daß jetzt jedes Gebilde, das auch nur eine entfernte Ähnlichkeit mit einer Spirochäte hat, geschweige denn mit einer *Pallida* mit steilen, korkzieherartigen, feinen steilen Windungen, nunmehr als Syphiliserreger bezeichnen kann, wenn es sich nur in syphilitischem Material findet. An Erklärungen fehlt es nicht, ja die wunderbarsten Abweichungen vom Typus, selbst die nur in der Phantasie bestehende Selbstbefruchtungsform, wird als *Pallida* gezeigt. Prowazek und Mühlens bestätigen somit dieselben Erfahrungen, die schon im Anfang der Spirochätenforschung Neisser und Bertarelli gemacht hatten. Neisser hatte schon damals erklärt, daß die *Pallida* sich mit Sicherheit von anderen nicht unterscheiden ließe. Andererseits hatte er schon damals in den Drüsen und inneren Organen der geimpften Affen Formen gefunden, die er Refringens nannte, die nach der neueren Bestimmung nun auch *Pallida* sein müßten. Bertarelli und Volpino sagen, nicht immer ließe sich der Irrtum vermeiden, Formen für *Pallida* zu nehmen, die es nicht sind; die von Schaudinn gegebenen Merkmale ließen zu wünschen übrig.

Man hat ferner geglaubt, die *Spirochaete pallida* durch Lebendbeobachtung als bestimmte Art erkennen zu können. Wie man überhaupt besonders nach Einführung der Dunkelfeldbeobachtung mit großen Hoffnungen an den Nachweis der *Pallida* herantrat. Die Dunkelfeldbeobachtung sollte vor allen Dingen auch dann noch spärlich vorkommende *Pallida*-Formen zu Gesicht bringen, wenn sie mittels der Giemsa-Färbung nicht erscheinen wollten. Dieser Gedanke wurde besonders von Eitner zum Ausdruck gebracht. Meine eigenen Beobachtungen haben dies nicht ganz bestätigen können. Ich hatte mir den Reichertschen Apparat angeschafft, um mir nicht den Vorwurf machen zu lassen, daß mir der Nachweis von *Pallida*-Formen in Affenorganen vielleicht aus Mangel an technischen Hilfsmitteln dauernd mißlinge. Hier fand sich nun allerdings niemals weder mit intensivster Giemsa-Färbung noch mit Dunkelfeldbeleuchtung irgend etwas Verdächtiges. Auch in den fast regelmäßig saprophytisch verunreinigten Organen syphilitischer Neugeborener konnte ich mehrmals mittelst des Dunkelfeldapparates keine Spirochäten finden, während die Giemsa-Färbung nach 24-stündiger Einwirkung zum Ziele führte. Es ergibt sich hieraus, wie auch Schüffner feststellte, daß die Giemsa-Färbung an Zuverlässigkeit die Dunkelfeldbeleuchtung übertrifft, und daß letztere zum Bestimmen subtiler Artcharakteristika keinesfalls hervorragend brauchbar ist.

schieden in allen Formen und Füllen sind, wie vielfach angenommen wird, nicht erbracht erscheint. Es ist daher sehr wohl möglich, daß es sich um verschiedene Entwicklungsphasen der *Spir. pallida* handelt. Damit würde die Auffassung stimmen, daß es Spirochätenträger gibt, ohne daß eine luetische Allgemeininfektion zustande kam.“

Noch unzuverlässiger als die Dunkelfeldbeleuchtung, ja durchaus irreführend, selbst wenn sie gut gelungen ist, hat sich die Silbermethode erwiesen, von der zuerst sehr viel Rühmlisches berichtet wurde, so daß man glaubte, am Anfange einer unübersehbaren Kette von neuen Aufschlüssen über Krankheitserreger zu stehen. Die Methode Volpino-Bertarelli-Levaditi dürfte hinreichend bekannt sein, so daß ich darauf verzichten kann, sie hier ausführlich zu beschreiben. In meinem Laboratorium ist dieselbe sofort nach ihrem Auftreten geübt worden und bei fast jedem Fall von Syphilis beim Menschen und Affen und auch besonders bei sehr vielen nicht syphilitischen Produkten in ausgiebigster Weise zur Anwendung gebracht. Diese Methode erheischt deswegen ein besonderes Eingehen, weil nach Flügge erst nach ihrer Einführung die Ueberzeugung von der ätiologischen Rolle der Spirochäten allgemeinen Eingang fand und auch von Benda zugegeben wurde, daß mit der Zuverlässigkeit dieser Methode die *Spirochaete pallida* stehe und falle¹⁾.

Die Silbermethode als Gewebefaserfärbung war schon lange in Gebrauch, aber weder zum Nervennachweis noch zum Färben von anderen Fasern hat sich dieselbe einer allgemeinen Beliebtheit erfreuen können, besonders wegen ihrer Unzuverlässigkeit, indem sie oft ganz versagte, oft aber auch solche Partien färbte, die nicht getroffen werden sollten. Man hatte sich daher gewöhnt, der Silberfärbung nur eine sehr bedingte Bedeutung zuzumessen und immer betont, daß aus der Silberfärbung allein niemals Schlüsse gezogen werden dürften; es bedürfe immer noch einer Kontrolle mit echten Farbstoffen. Sowohl bei der Färbung von Nerven als auch von Fasergewebe traten dann die Anilinfarbstoffe ganz an die Stelle der Silbermethode, die in den letzten Jahrzehnten fast völlig außer Mode gekommen ist. In der Bakteriologie wurde die Silbermethode nur gelegentlich zur Vorbeizung benutzt, ohne größere Bedeutung erlangen zu können. Als die Methode jetzt wieder eingeführt wurde²⁾, stellte es sich heraus, daß man nicht nur im Schnitt nach Blockimprägnation alle möglichen Fasergebilde und Bakterien färben könne, sondern es gelang der Nachweis, daß auch im Ausstrich, wenn auch etwas schwieriger, Spirochäten sich mit Silber nachweisen ließen.

Die ersten derartigen Versuche wurden in meinem Laboratorium

1) In zahlreichen in der Literatur niedergelegten Fällen ist die Diagnose auf Syphilis beim Fehlen anderer sicherer Zeichen ausschließlich auf Grund des Nachweises von Silberspiralen gestellt worden (vergl. Rosenbach, Saling).

2) Während der Korrektur finde ich folgende hierher gehörige Bemerkung in dem soeben erschienenen Lehrbuch der mikroskopischen Technik von Rawitz: „In unserer Zeit, wo Silberlösung zum Nachweis intrikatester Strukturen verwendet wird, sei die historische Erinnerung aufgefrischt, daß der Physiologe Brücke mit Höllesteinlösung die Endothelzeichnung auf reinen Objektträgern hervorgerufen hat. Würden wir Ganglienzellen und Nerven nicht längst durch die Färbungsmethode kennen gelernt haben: die Versilberung namentlich nach der Golgischen Methode hätte uns nie gezeigt, was eine Ganglienzelle ist. Und ebenso steht es im großen und ganzen mit der Vertrauenswürdigkeit der Goldlösungen. Darum glaube ich zum Mißtrauen gegenüber den Metallimprägnationen raten zu müssen. An Material, dessen Textur und Struktur wir in seinen Grundzügen kennen, werden sie manche neue Einzelheiten zur Erscheinung bringen: aber eben nur Einzelheiten an bekannten Strukturelementen. Ob dagegen neue Strukturbilder, welche uns das Mikroskop zeigt, wirklich Strukturelemente darstellen, ist sehr fraglich, wenn wir unsere Erkenntnis nur den Metallsalzen verdanken. Die erstaunliche Kritiklosigkeit, mit der manche Autoren die Ergebnisse der Metallimprägnationen aufnehmen, ist beinahe so groß, wie die Launenhaftigkeit dieser Methode.“ (Der letzte Satz von mir gesperrt.)

von Saling gemacht. Es gelang, die Hühnerspirochäten im Ausstrich mit Silber zu färben. Die Arbeit wurde mit deutlich gelungenen Photographieen in den Sitzungsberichten der Gesellschaft naturforschender Freunde herausgegeben, blieb aber verhältnismäßig unbekannt, so daß spätere Autoren wie Schuster, der Balanitisspirochäten im Ausstrich, und Stern, der Pallida-Spirochäten im Ausstrich färbte, sie übersehen zu haben scheinen. Die Färbbarkeit von Gewebfasern, die Ähnlichkeit mit Spirochäten haben, ist in meinem Laboratorium durch sehr eingehende Untersuchungen festgestellt. Die Resultate waren folgende: Im normalen Gewebe gelingt es selten, mittels der Silbermethode spirochätenähnliche Fasern zu Gesicht zu bringen. Spiralig gewunden findet man allerdings nicht selten die Bindegewebsfibrillen. Auch färben sich dieselben häufig in abgerissenen Stücken und die Färbung läßt sich je nach der Intensität durch alle Nuancen von hellgelb bis tiefschwarz durchführen, so daß es ein Irrtum ist, wenn so viele Autoren behaupten, nur die *Spirochaete pallida* färbe sich schwarz, alles andere aber heller (Herxheimer, v. Prowazek u. A.). Aber im normalen Gewebe findet man nur selten solche Formen. Mit Silber sich schwarz färbende Fasern findet man nicht nur im Bindegewebe, sondern auch im Epithel (siehe die Ranvierschen Stützfasern des Epithels (Abb. bei Böhm und v. Davidoff, vergl. ferner die Schubergschen Verbindungsfäden zwischen Epithel und Bindegewebszellen in der Haut des Axolotl), aber im normalen Gewebe findet man nur selten einzelne Gebilde, die mit Spirochäten in Größe, Windungszahl und Färbung durchaus identisch sind. Um die Ähnlichkeit der silbergefärbten Fasern mit Spirochäten zu erhöhen, muß noch etwas hinzukommen in der Präparation des Gewebes. Die Fasern müssen in ihrem Zusammenhange stark gelockert werden, so daß die feinsten Fibrillen frei daliegen, etwa wie die feinsten Fäden einer gelockerten Schnur. Dies ist ein biologischer Vorgang, den wir, da die ursächlichen Bedingungen nicht ganz aufgeklärt sind, zielbewußt und experimentell nicht überall nachahmen können. Macerationsflüssigkeiten, auf normales Gewebe einwirkend, genügen allein nicht, um den Prozeß so hochgradig zu Ende zu führen. Die das Gewebe auflösenden Agentien, die vielleicht auf Autolyse oder anderen unbekannten Faktoren beruhen und die z. B. bei der Nekrose nach dem Setzen einer mit beliebigem infektiösen Stoff verunreinigten Hornhautwunde ins Spiel treten, sind jedenfalls geeignet, das Fasergewebe dieses Organes so zu verändern, daß es als Paradigma einer solchen Faserlockerung dienen kann. In dieser Richtung sind in meinem Laboratorium eine ganze Reihe von Untersuchungen vorgenommen worden, und es ist nicht selten mit den verschiedensten Infektionsstoffen gelungen, in der Hornhaut einen Prozeß zur Auslösung zu bringen, der Spirochäten vortäuschende Bilder hervorrief. Solche Spiralen wurden erzeugt durch Straßenschmutzimpfung, ein anderes Mal durch Impfung mit Zahnschleim. Besonders deutlich gelungene Photographieen derselben findet man in den „Klinischen Monatsblätter für Augenheilkunde“ von Walter Schulze veröffentlicht. Die Bilder waren tatsächlich so frappierend ähnlich den in syphilitischem Gewebe erzeugten Spiralen, daß manche Spirochätenanhänger sie in der Tat für Spirochäten erklärten, die in die Cornea eingewandert sein müßten. Doch dieser Einwand wird hinfällig durch den mangelnden Nachweis von Spirochäten an derselben Stelle mit Farbstoffen sowie durch die Möglichkeit, in einzelnen Partien des Gewebes noch im Zusammenhang stehende Spiralen nachzuweisen, die ihren

faserigen Charakter unzweideutig dartun. Einige Autoren wiederholten den Einwurf, die Schulzeschen Corneaspiralen seien länger und dicker als die Syphilis-„Silberspirochäten“. Um diesem Einwand zu begegnen, habe ich auf der Tafel Fig. 1 u. 2 zwei „Spirochäten“ (bei genau derselben Vergrößerung photographiert) nebeneinandergestellt. Es dürfte kaum möglich sein, zu erkennen, daß 1 aus der nichtluetischen Cornea, und 2 aus der Leber eines syphilitischen Kindes stammt. Uebrigens wird in letzter Zeit ja auch von Spirochätenanhängern (z. B. von Dohi, Benda) zugegeben, daß einzelne Fasern tatsächlich nicht von Spirochäten bei Silberfärbung zu unterscheiden seien. Diese Autoren sehen nur in der sehr großen Ansammlung ihrer „Spirochäten“ einen sicheren Unterschied von Fasern. Vor kurzem erschien ein Aufsatz von Sakurane. Es sind darin Silberspiralen in nekrotischen Partien von Menschenpocken abgebildet, die von den bei Syphilis gefundenen Faser-spiralen nicht zu unterscheiden sind (siehe Fig. 3 der Tafel). Das wäre also wiederum ein Beweis für die Fibrillennatur dieser spiraligen, spirochäten-ähnlichen Gebilde. Der Einwurf, daß spirochätenähnliche Gewebsfibrillen nicht in großer Menge vorkämen, wird ebenfalls hinfällig, wenn man sich die gelockerte Fibrillenansammlung ansieht, wie sie in den von Saling veröffentlichten Karlinski-Präparaten vorkommen. Diese Spiralen sind durch einen anderen Prozeß hervorgerufen worden als die Corneaspriochäten Schulzes. Ein macerierter Schweinefötus von einem ganz gesunden Muttertier zeigt das Gewebe dicht mit solchen Fasern durchsetzt (siehe die gut gelungenen Photogramme in dieser Zeitschr. Bd. XLIV, Heft 4). „Myriaden“ solcher Fasern kann man fast an jeder Stelle der Hautschnitte erkennen. Bei der Demonstration eines solchen Präparates in der Medizinischen Gesellschaft wurde allseitig bestätigt, auch von den Anhängern der Spirochätentheorie, daß die Silberspiralen dieses Präparates von den sogenannten Pallida-Silberspirochäten nicht zu unterscheiden wären. Hoffmann erklärte auch schriftlich in einer Anmerkung zu seinen Diskussionserörterungen die Spiralen direkt für Spirochäten vom Pallida-Typus. Ich will, der weiter unten folgenden Auseinandersetzung vorausleitend, nur bemerken, daß er sich mit dieser Konzession selbst den Boden unter den Füßen entzogen hat, denn wenn er die Möglichkeit einer Invasion von Spirochäten beim Schweinefötus zugibt, die absolut identisch sind mit den bei menschlichen, syphilitischen Föten vorkommenden Spirochäten, so folgt hieraus, daß auch bei menschlichen Föten die in den inneren Organen nachgewiesenen Spirochäten ebenso gut aus dem Darm oder anderswoher eingewandert sein können und nichts mit der Syphilis zu tun haben. Doch bei dem Schweinefötus ist diese Auffassung hinfällig, es läßt sich bei genauer Absuchung des Präparates feststellen, daß die Spiralen an einzelnen Stellen ein dichtes Netz bilden, und selbst da, wo sie anscheinend frei im Lumen der Gefäße liegen, lassen sich an einzelnen Stellen Verbindungen mit der Wand nachweisen, so daß die scheinbar freiliegenden Spiralen nichts anderes sind als infolge der Macerationslockerung des Gewebes losgetrennte Partien.

Wir hätten also hiermit eine zweite Bedingung der Faserlockerung mit dem Effekt pallida-gleicher Bilder. Die Maceration ist aber jedenfalls allein nur ganz ausnahmsweise geeignet, diesen Grad der Auflockerung zu erzeugen, oder vielmehr, richtiger ausgedrückt, es wird vom Zufall abhängen, ob wir die Maceration, wenn wir sie künstlich einwirken lassen, gerade im richtigen Moment unterbrechen, oder ob wir

die macerierten gesunden Föten gerade im richtigen Stadium in die Hände bekommen. Bei etwa 30 Schweineföten und einigen Kinderföten, die ich untersuchte, gelang es mir nicht, dieses richtige Stadium anzutreffen. Entweder war die Maceration noch nicht hochgradig genug in ihrer Wirkung, oder es war, was besonders bei Schweineföten häufig beobachtet wird, das Gewebe eingetrocknet, mumifiziert.

Dieselben Gründe, welche wir als spirochätenerzeugende Momente bei gesundem Gewebe festgelegt haben, also einerseits die Autolyse, Gewebslockerung eines krankhaft entzündlichen Prozesses (Kaninchen-cornea), andererseits Maceration im Mutterleibe, kommen auch bei der Erzeugung der Silberspiralen, bei syphilitischen Neugeborenen und Föten in Betracht. Es ist Tatsache — ich habe es an einem sehr großen Material, das mir sowohl durch die Liebesswürdigkeit des Herrn Geheimrat Bumm aus der Charité als auch des Herrn Dr. Becker aus dem Charlottenburger Krankenhause zur Verfügung stand, erproben können — daß in den inneren Organen bald nach der Geburt gestorbener syphilitischer Kinder fast immer, bei im höchsten Grade macerierten syphilitischen Föten aber regelmäßig sich Silberspirochäten nachweisen lassen. Bei den syphilitischen Neugeborenen kommen ganz besondere Verhältnisse in Betracht, wie wir sie bei Gesunden oder an anderen Krankheiten gestorbenen oder macerierten Föten niemals beobachten können. Ueber den hochgradigen Unterschied zwischen Foetus sanguinolentus syphiliticus et non syphiliticus haben Pollnow und Ruge, besonders der letztere, sehr ausführliche Untersuchungen angestellt. Auch die bald nach der Geburt sterbenden syphilitischen Kinder zeigen in ihren Organen so weitgehende Veränderungen krankhafter Art, wie man sie bei keiner anderen Krankheit wieder sieht, geschweige denn bei sonst gesunden Kindern¹⁾. In den hochgradig veränderten Organen der syphilitisch Neugeborenen ist alles zerstört, mit Ausnahme des allerdings auch morphologisch veränderten fibrillären Bindegewebes. Die Spirochätenanhänger kennen diese Bilder wohl, nur daß sie das Bild anders auffassen. So sagt Schaudinn in seiner letzten Arbeit: „An vielen Stellen ist das Bindegewebe fast durch Spirochäten ersetzt“ oder „an vielen Stellen entstand der Eindruck, als sei das Geflecht des Bindegewebes durch Spirochätenflechtwerk (von mir gesperrt) ersetzt“. Gerade auf Grund solcher Bilder erklärt Schaudinn ausdrücklich die Erregernatur der Spirochäten sicher fundiert, während ich mich auf Grund derselben Bilder gerade von der Fibrillennatur derselben Spiralen überzeuge. Die oft enormen Mengen von Silberspirochäten in macerierten Föten und sogar „klumpenweises“ Vorkommen derselben im Darm (Abstoßung des bei der Maceration übrig gebliebenen Gerüstgewebes) hatten sogar zu der Theorie geführt, daß es sich um eine Anreicherung nach dem Tode handle (Simonds, Bab), ganz im Gegensatz zu der sonst festgehaltenen Theorie von der Trypanosomennatur der Spirochäten. Pathogene Trypanosomen, z. B. Naganatrypanosomen, gehen in der Leiche sofort nach dem Tode äußerst schnell zu Grunde.

1) Es ist sehr lehrreich, Mikrophotogramme von syphilitischen Lebern mit denen von anderweitig erkrankten und gesunden zu vergleichen. Die ganz besondere Eigenartigkeit des syphilitischen Prozesses tritt dann deutlich hervor. Ich demonstrierte solche Bilder während meines Vortrages auf der Versammlung Deutscher Naturforscher u. Aerzte in Dresden im September d. J.

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm.

Von Dr. A. Ucke,

Prosektor am Deutschen Alexanderhospital für Männer in St. Petersburg.

Mit 6 Figuren.

In diesem Centralbl. Bd. XLIV. Heft 2 teilt V. Ellermann seine Beobachtungen über kleinste Mikroorganismen im menschlichen Speichel mit und gibt dabei Abbildungen dieser Gebilde, die mich an Formen erinnern, wie ich sie oft in Faeces gefunden habe.

Ueber meine Befunde habe ich im Jahre 1903 im Deutschen ärztlichen Verein in St. Petersburg in der Sitzung am 10. Febr. Mitteilung gemacht¹⁾. Ueber eine größere Zahl von Befunden erstattete ich am 27. Febr. (11. März) 1904 der Mikrobiologischen Gesellschaft in St. Petersburg einen Bericht, worüber ein kurzes Referat sich in dieser Zeitschrift findet (Bd. XXXIV. 1904. No. 24/25).

Wenn die Aehnlichkeit der Ellermannschen Gebilde mit den meinigen in der Form eine große ist, so sind es doch fraglos ganz verschiedene Organismen, was ohne weiteres aus den Größenverhältnissen erhellt: Während aus Ellermanns Beschreibung hervorgeht, daß seine Mikroben etwa $\frac{1}{2}$ –2 μ im Durchmesser groß sind, ergaben meine Messungen Durchmesser von mindestens 5–15–20 μ .

Ellermann spricht auf Grund der Bewegungsart die Vermutung aus, daß seine Gebilde Flagellaten seien; wir werden sehen, daß aus meinen Befunden diese Meinung gestützt werden kann.

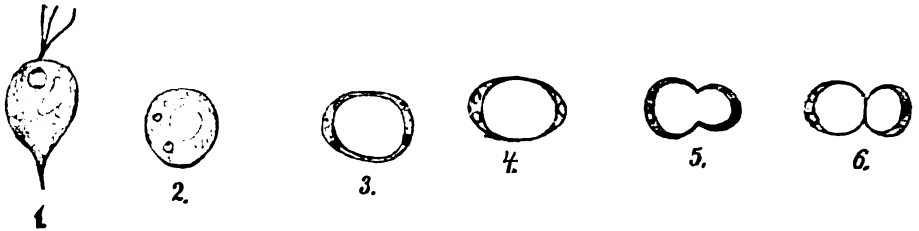
Aufmerksam wurde ich auf die Formen, die ich im weiteren beschreiben und von denen ich hier Abbildungen geben will, gelegentlich von Faecesuntersuchungen, bei denen ich Amöben in fixierten Präparaten färberisch nachzuweisen suchte. Dabei verfuhr ich nach der bei Doflein²⁾ p. 34 unter 2 angeführten Methode, indem ich in Sublimatalkohol die auf Deckgläschen dünn ausgestrichenen Faeces fixierte und laut Angabe weiterbehandelte. Statt Hämatoxylin verwendete ich jedoch eine gesättigte Lösung von Thionin in 2-proz. Karbollösung, tauchte die Präparate in 1-proz. alkoholische Eosinlösung und behandelte weiter mit absolutem Alkohol und Xylol und schloß in Kanadabalsam ein. Die einmal frisch fixierten Präparate bewahrte ich auch unbeschränkt lange Zeit in der Fixationsflüssigkeit auf und konnte dann gelegentlich die Färbung vornehmen. Zwar versuchte ich auch andere Färbungen, doch gab mir die Thioninfärbung durchaus befriedigende Differenzierung.

In nach dieser Methode dargestellten Präparaten fand ich in einem Falle neben typischen Amöben runde Gebilde von siegelringähnlicher Form, aber wechselnder Größe, die aus einer homogenen hellrosa gefärbten Kugel bestanden, der eine Kugelkappe von violetter Farbe aufsaß; in dieser Kugelkappe waren meist 2 stärker lichtbrechende Körner wahrnehmbar und eine undeutlich körnig-wabige Protoplasmastruktur. In demselben Stuhl, frisch untersucht, fanden sich typische Trichomonaden von charakteristischer Birnform, mit Stachel am Hinterende

1) St. Petersburg. med. Wochenschr. 1903. Heft 29. p. 294.

2) Doflein, F., Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena (G. Fischer) 1901.

3 Geißeln am Vorderende, undulierender Membran, Kern und Vakuole. Solche Formen mit allen typischen Merkmalen waren auch in den gefärbten Präparaten zu finden, dann aber eine ganze Reihe von Uebergangsformen zu den zuerst beschriebenen Siegelringen. In der nebenstehenden Zeichnung ist diese Reihe wiedergegeben, wie ich mir die



Entwicklung vorstelle: Zunächst rundet sich der birnförmige Körper der Trichomonade ab, wird oval, die Vakuole vergrößert sich, das Protoplasma wird an die Peripherie gedrängt; nachdem das Ganze kugelig geworden, sammelt sich das Protoplasma an zwei entgegengesetzten Polen an, während es sich in der Aequatorialebene verdünnt; hier beginnt dann eine Einschnürung, die nach und nach zunimmt und zur Abschnürung von 2 kugeligen, aber kleineren Körpern führt, die die vorhin erwähnte Siegelringform zeigen. Während Doflein (l. c. p. 79) von der *Trichomonas vaginalis* nur einen Kern erwähnt, der dicht hinter dem Geißelursprung liegt, behauptet er, daß es keine kontraktile Vakuole bei ihr gibt; da er sich gleichzeitig für die Identität der *Tr. hominis* und *Tr. vaginalis* ausspricht, so muß man annehmen, daß auch bei dieser keine Vakuolen beobachtet werden. Aus meinen gefärbten Präparaten geht jedoch hervor, daß außer einem Kern auch stets eine Vakuole vorhanden ist, die dann bei der Cystenbildung eine Rolle spielt. Denn während der größere Teil der Cyste aus der Vakuole hervorgeht, sieht man im peripheren protoplasmatischen Teil je 2 ovale Körner, die sich mit Thionin nicht färben, aber doch wohl als Kernderivate aufzufassen sind. Es fragt sich nun weiter, ob die Cysten in Siegelringform sich weiter in derselben Art teilen oder ob sie sofort als Dauerformen liegen bleiben? Vielleicht ist aus der sehr verschiedenen Größe der Siegelringe der Schluß erlaubt, daß eine Weiterteilung derselben vor sich geht, wobei die Teilstücke kleiner werden. Die Möglichkeit einer Kopulation ist auch in Erwägung zu ziehen, doch habe ich keine Anhaltspunkte dafür, ob irgendwelche Formen in diesem Sinne verwertbar wären.

Nachdem ich den Zusammenhang zwischen encystierten und vegetativen Formen der Trichomonaden im Stuhl erkannt hatte, achtete ich bei Faecesproben, die mir behufs Untersuchung in mein Privatlaboratorium zugesandt wurden oder gelegentlich im Alexanderhospital in die Hände kamen, auf den Nachweis der Trichomonaden mittelst der Färbemethode, und dabei erwies es sich, daß, wenigstens in Petersburg, sie sich keineswegs selten in den Dejekten von Menschen fanden. So waren in 82 von 138 Fällen, über die ich mir Notizen gemacht hatte, Trichomonaden im Stuhl, zuweilen bei wiederholten, selbst mit jahrelangen Intervallen ausgeführten Untersuchungen, nachweisbar. Irgend einen ursächlichen Zusammenhang zwischen der Anwesenheit von Trichomonaden im Stuhl und etwaigen pathologischen Erscheinungen in der Darmfunktion kann ich nicht mit Sicherheit behaupten: Aus einer ge-

wissen charakteristischen Beschaffenheit des Kotes läßt sich zwar mit großer Wahrscheinlichkeit die Anwesenheit der Trichomonaden agnostizieren, doch gilt das einestheils nur für Petersburg, wo meine Untersuchungen ausschließlich ausgeführt sind, andererseits waren sie auch bei abweichendem Verhalten des Kotes nicht selten vorhanden. Die für Trichomonaden charakteristischen Faeces waren von dickbreiiger oder festweicher Konsistenz, meist leicht saurerer Reaktion und von einem eigentümlich säuerlichen Geruch begleitet; während die Gegenwart von feinen Schleimflocken nicht bindend war, konnten auch andere Merkmale fehlen, und selbst in festen Kotballen habe ich sie nachweisen können. Immerhin darf betont werden, daß große Mengen von Trichomonaden stets nur in breiigem Kot zu finden sind; dieser Umstand kann auch in dem Sinne ausgelegt werden, daß die im Dünndarm häufig, vielleicht stets, parasitierenden Trichomonaden beim schnelleren Tempo der Darmperistaltik bei katarrhalischen Zuständen in größeren Mengen entleert werden, während sie sonst bei der Eindickung des Kotes im Dickdarm zu Grunde gehen.

Demnach wäre es sehr erwünscht, die Häufigkeit des Vorkommens der Trichomonaden in anderen Gegenden zu konstatieren und auf ihre Anwesenheit im Dünndarminhalt zu fahnden. Einige wenige meiner Versuche in dieser Richtung bei Sektionen führten zu einem negativen Resultat, doch sind diese Ergebnisse keineswegs einwandfrei, da die Trichomonaden sich im Kot keineswegs lange halten: die vegetativen Formen verschwinden außerordentlich schnell, besonders bei Körpertemperatur (im Thermostaten), aber auch die Cysten sind nach 6 bis 12 Stunden nur selten nachweisbar; in vereinzelten Fällen habe ich sie in wenigen Exemplaren nach 24 Stunden gefunden. Deshalb konnte ich auch meinen negativen Befunden bei Sektionen keinerlei Beweiskraft zuschreiben, da immerhin Stunden nach dem Tode vergangen waren und in dieser Zeit die vegetativen Formen zu Grunde gegangen sein konnten. Gleich hier möchte ich auch bemerken, daß Flagellaten (Trichomonaden und Megastomen) sich besser im entleerten Kote halten, wenn man sie bei Zimmertemperatur als bei Körpertemperatur im Thermostaten aufbewahrt. Dasselbe gilt auch für Amöben.

Des weiteren möchte ich hier einige Worte zum Vorkommen des *Megastoma entericum* (Grassi) im Darm des Menschen sagen. Nach Doflein ist es ein sehr häufiger Parasit des Dünndarmes, sowohl des Menschen als auch einer Reihe von Tieren, wie Maus, Kaninchen, Katze u. a., und auch ich habe sie gelegentlich in großen Mengen beim Kaninchen gefunden. Was nun ihren Nachweis in den Faeces des Menschen betrifft, so kann ich zu diesem Zwecke dieselbe Fixations- und Färbemethode empfehlen; nach derselben habe ich von den erwähnten 138 Faecesuntersuchungen in 9 Fällen Megastomen gefunden, und zwar sind dieselben nicht nur an ihren vegetativen, sondern auch an ihren encystierten Formen erkennbar, die bereits von Salomon¹⁾ beschrieben und abgebildet sind. Er zeichnet die homogenen ovalen Gebilde mit deutlicher, scharf konturierter Cystenschale und zwei bogenförmig geschwungenen, der Länge nach über das Oval hinlaufenden Linien. Diese Struktur ist auch in gefärbten Präparaten deutlich wahrnehmbar, doch lassen sich außerdem an einem Ende stets vier stärker gefärbte Punkte wahrnehmen, die zu je zwei in verschiedenen Ebenen gelegen sind.

1) Salomon, Berl. klin. Wochenschr. 1899. No. 46. p. 1005.

Nachdruck verboten.

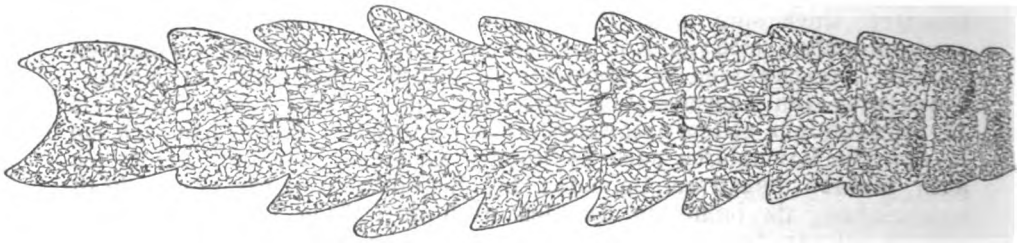
Sterilitäterscheinungen bei Cestoden.

Von Prof. Al. Mrázek in Prag.

Mit 1 Abbildung.

In einer unlängst in dieser Zeitschrift erschienenen Mitteilung erwähnt W. Clerc die gewiß interessante Tatsache, daß er bei *Diococystus aspera* Fuhrm. Individuen fand, welche der Geschlechtsorgane vollkommen entbehrten („individus asexués“)¹⁾. Ueber die Entstehung dieser Abnormitäten blieb der Autor im Ungewissen.

Einige Erfahrungen, die ich vor kurzer Zeit an einer anderen Cestodenart (*Tatria acanthorhyncha* Wedl) zu machen die Gelegenheit hatte, könnten vielleicht einige Anhaltspunkte, wenn nicht zur Lösung, so doch zur Beurteilung dieser Frage bieten. Ich fand zunächst eine kleine Strobila der erwähnten Form, die man als rein männlich bezeichnen könnte, wenn nicht von den weiblichen Geschlechtsorganen doch die Receptacula seminis vorhanden gewesen wären. Ein anderes Individuum (vergl. die Abbildung) wies ein noch merkwürdigeres Ver-



halten dar. In den vordersten, jüngsten Proglottiden waren deutliche Anlagen einzelner Teile des Geschlechtsapparates, d. h. besonders des Cirrusbeutels und der für die Form so charakteristischen Receptacula (vergl. meine Arbeit über diese Tánie), in Form von bestimmt angeordneten Zellenanhäufungen sichtbar, aber in verschiedenem Umfange, so daß z. B. in der 5. und 6. Proglottis nur die (im 6. Glied überdies nur winzige) Anlage des Receptaculum bemerkbar war. Die ältesten, hintersten Proglottiden zeigten nicht einmal die leiseste Spur der Geschlechtsorgane oder auch nur der Anlagen solcher. Das Zustandekommen einer solchen sterilen Strobila könnte auf zweierlei Weise gedeutet werden. Vielleicht haben wir es mit einem wirklich dauernd sterilen Individuum zu tun; die in den jüngsten Proglottiden sich findenden Anlagen der Geschlechtsorgane entwickeln sich nicht weiter und gehen vielleicht beim weiteren Wachstum einer vollkommenen Degeneration und Auflösung entgegen. Es wäre aber auch denkbar, daß das Tier, nachdem es eine Anzahl steriler Proglottiden hervorgebildet hat, zu normalem Verhalten wiederkehrt. Die Anlagen in den vordersten Proglottiden würden also mit der Zeit sich noch zu normalen Geschlechtsorganen entwickeln. In diesem letzteren Fall würden die Sachen gerade entgegengesetzt verlaufen, als es sich Clerc vermuthungsweise vorgestellt

1) Clerc, W., Notes sur les cestodes d'oiseaux de l'Oural. III. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 703.)

hat¹⁾. Da mir kein weiteres Material vorliegt, so kann die Frage nicht endgültig entschieden werden, doch vermute ich, daß die zuerst angeführte Eventualität die zutreffende ist.

Soviel scheint jedoch aus meinen Beobachtungen sowohl, als auch denjenigen Clercs hervorzugehen, daß bei einzelnen Cestoden unter Umständen sich eine offenbare Neigung zur Sterilität zeigt, die verschieden weit führen resp. auch nur bestimmte Komponenten des Geschlechtsapparates betreffen kann. Möglich wäre es, daß diese Erscheinungen in einem Zusammenhang mit den Vorgängen stehen, die zur Hervorbildung der seltenen Fälle der Getrenntgeschlechtlichkeit unter den Cestoden geführt haben.

Es ist schade, daß bis jetzt nur so spärliche Angaben über die Sterilität bei den Cestoden vorliegen. Sterile Individuen würden doch meines Erachtens von einer großen Bedeutung sein für die Lösung einiger interessanter allgemeiner morphologischer Fragen, insbesondere für die Frage, ob die Proglottidenbildung mit der Hervorbildung resp. Gliederung des Geschlechtsapparates in einem korrelativen Zusammenhang steht oder nicht²⁾. Soweit man bis jetzt beurteilen kann, würden die sterilen Cestoden gegen einen solchen Zusammenhang zeugen, also ganz im Sinne Spengels.

Prag, 20. Juli 1907.

Nachdruck verboten.

Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Leukocyten für die Immunität

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium des Karolinischen Instituts in Stockholm.]

Von Dr. Alfred Pettersson.

(Schluß.)

Dem Problem der Milzbrandimmunität haben in der letzten Zeit Gruber und Futaki (13) viel Arbeit gewidmet. Auch diese Forscher kommen zu dem Schlusse, daß die Leukocyten für das Vorbeugen der Milzbrandinfektion von größter Bedeutung sind. Die milzbrandfeindlichen Stoffe dieser Zellen sollen aber wirkliche Sekrete sein. Die Empfänglichkeit des Kaninchens, trotz seines hochwirksamen Serums, kommt daher, daß die keimfeindlichen Substanzen tatsächlich nicht im Plasma vorkommen, sondern erst nach dem Zerfalle der Blutplättchen in das Serum austreten. Nun läßt sich die Sache meines Erachtens dadurch nicht erklären. Denn würden die Serumbakteriolytine des Kaninchens wirklich die im Tiere wirkenden Schutzstoffe sein, so müßte es ja gelingen, durch Injektion von normalem Kaninchenserum Kaninchen gegen Milzbrand zu schützen, was bekanntlich nicht glückt. Gruber und Futaki erhielten die milzbrandbacillenfeindlichen Substanzen aus den

1) l. c. p. 704: „On pourrait supposer aussi que ce soient des femelles ayant déjà produit une quantité de proglottis mûrs déjà tombés, et que le scolex continuât de produire des proglottis atrophiés“.

2) Vergl. Spengel, J. W., Die Monozootie der Cestoden. (Zeitschr. f. wiss. Zool. Bd. LXXXII, 1905.)

Leukocyten durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Digerieren bei $+38^{\circ}$ und haben dabei gefunden, daß diese Stoffe zur Kochsalzlösung nicht abgegeben werden, zur Stauungslymphe aber in reichlicher Menge. Es leuchtet sofort ein, daß die in Frage kommenden Stoffe mit den von mir in den Kaninchenleukocyten nachgewiesenen, auf die Milzbrandbacillen wirkenden Endotoxinen nicht identisch sind. Die durch die Leukocyten aktivierte Stauungslymphe tötete, wenn die Leukocyten zahlreich waren, schon innerhalb 1 Stunde alle ausgesäten Keime. Bei geringerer Anzahl Leukocyten wurden nicht alle Bacillen vernichtet, sondern Vermehrung trat bald ein. Die Wirkungsweise der aktivierten Stauungslymphe stimmt also genau mit der des Kaninchenserums überein. Die Keimvernichtung setzt äußerst rasch ein, dauert aber auch nicht sehr lange, so daß, wenn die Serumstoffe zur vollständigen Vernichtung nicht langen, Vermehrung der Milzbrandbacillen bald eintritt. Die Abtötung dieser Keime durch die bakteriziden Leukocytenstoffe findet, wie ich nachgewiesen habe, in ganz anderer Weise statt. Vor allem ist während der ersten Stunde keine Vernichtung wahrzunehmen. Im Gegenteil dürfte in dieser Zeit eine geringe Vermehrung nicht ausgeschlossen sein.

Die Aktivierung der Stauungslymphe dürfte aller Wahrscheinlichkeit nach eine mit der Aktivierung von Hunde-, Hühner- und Rindersera durch Kaninchenleukocyten ganz analoge Erscheinung sein.

Daß beim Kaninchen und Pferd sowie auch bei der Ratte zwei verschiedene, auf Milzbrandbacillen wirkende Komplemente vorkommen, die durch ihre ungleiche Thermostabilität getrennt werden können, scheint, soweit aus den bisherigen Veröffentlichungen ersichtlich ist, von Gruber und Futaki nicht berücksichtigt worden zu sein. Nichtsdestoweniger geht aus den Untersuchungen deutlich hervor, daß das thermostabile Komplement aus den Blutplättchen stammt, während das thermolabile von den Leukocyten geliefert wird.

II. Ueber die Vernichtung der Strepto- und Pneumokokken durch die Leukocyten.

Bis jetzt ist ein Studium der bakteriziden Wirkung verschiedener Sera auf diese Krankheitserreger in größerer Ausdehnung kaum vorgenommen und noch weniger sind die Leukocyten einer Untersuchung in dieser Hinsicht unterzogen worden. Die Ursache dazu liegt wohl teilweise darin, daß die für die Plattenversuche gewöhnlich benutzten Nährböden für diese Organismen nicht so sehr geeignet sind. Außerdem war eine Unregelmäßigkeit sowohl in Bezug auf die Einsaat als auf die aus den Platten erhaltenen Zahlen betreffs der Streptokokken zu befürchten, da die Ketten von sehr ungleicher Menge Individuen bestehen. Diese beiden Schwierigkeiten sind aber leicht zu umgehen. Durch Zusatz von Serum wird der gewöhnliche Agar ein sehr guter Nährboden für die genannten Kokken, besonders für die Streptokokken. Am günstigsten scheinen Kaninchenserum und Ascitesflüssigkeit vom Menschen zu wirken, aber auch Meerschweinchen-, Hunde-, Katzen-, Ziegen- und Rindersera sind sehr brauchbar. Gleich vor dem Plattengießen wird das inaktivierte, erwärmte Serum dem flüssigen Agar in dem Verhältnis von 1 : 3 zugesetzt. Bei passender Alkaleszenz des Agars bleibt die Mischung klar oder fast ganz klar. Die Kolonien gehen recht üppig auf und auf Platten aus Proben, die mikroskopisch mehr oder weniger wohlerhaltene Kokken aufwiesen, habe ich nie Kolonien vermißt. Dagegen habe ich mehrmals in den Versuchen mit Pneumokokken in Röhren, aus welchen

die Platten keine Kolonien gaben, bei mikroskopischer Untersuchung geschwollene, stark entartete Kokken gefunden. Es dürfte aber berechtigt sein, an der Vermehrungsfähigkeit dieser Individuen zu zweifeln. Eine völlig gleichmäßige Einsaat ist auch von den Streptokokken leicht zu erreichen, wenn man von der gut verteilten Aufschwemmung einer Agarkultur ausgeht. In einer solchen Emulsion sind keine Ketten vorhanden, sondern die Kokken sind regelmäßig zu je zweien angeordnet. Bei eintretender Vermehrung in den Proben entstehen freilich wieder Ketten, dies ruft aber bei der Beurteilung der Versuchsergebnisse keinen Fehler hervor, sondern nur, daß das aus den Plattenzahlen hervorgegangene Bild der Vermehrung kleiner ist als die Wirklichkeit.

Da wenigstens die Streptokokken, die man aus Krankheitsherden beim Menschen züchtet, nicht als identisch angesehen werden dürfen, habe ich es für nötig gehalten, mehrere Vertreter der beiden Kokken zu untersuchen. Dadurch ist freilich die Arbeit in hohem Grade erweitert worden. Von den drei untersuchten Streptokokken stammte der eine aus einem phlegmonösen Erysipel, der zweite aus einer Septikämie und der dritte aus einer eitrigen Tendovaginitis an der Hand. Sie gehörten alle zu den sogenannten langen Streptokokken. Als Vertreter der Pneumokokken wurden zwei als No. I und No. III bezeichnete Stämme aus akuten krupösen Pneumonien und ein dritter, No. II, aus dem Rachenschleime des Verfassers studiert.

Als Hauptaufgabe der vorstehenden Untersuchung wurde betrachtet zu entscheiden, wo die auf die Strepto- und Pneumokokken wirkenden keimtötenden Substanzen stecken. Diese Aufgabe habe ich in der Weise zu lösen gesucht, daß bei jeder Tierart sowohl das Serum als die Leukocyten auf ihre bakterizide Wirkung im Reagierglase durch die Plattenmethode geprüft wurden. Die mit dieser Methode gewonnenen Resultate entsprechen aber, wie bekannt, nicht immer den Verhältnissen im Tierkörper. Sie mußten also kontrolliert werden. Deshalb wurden auch immunisierte Tiere der Untersuchung unterzogen, um zu sehen, ob vielleicht eine Vermehrung der keimtötenden Substanzen während des Vorbehandelns stattfindet.

Für Pneumokokken sind Mäuse und Kaninchen sehr empfänglich, mäßig widerstandsfähig sind Meerschweinchen, als völlig immun gilt das Huhn. Die zwei erstgenannten Tiere sind auch für Streptokokken sehr empfänglich. Mehr oder weniger immun sind Meerschweinchen, Katzen, Hunde, Rinder, Ziegen, Schafe und Pferde. Geflügel scheint in dieser Hinsicht nicht sehr genau geprüft zu sein. Die verwendeten Kulturen waren fast alle virulent. Für das Kaninchen war die kleinste tödliche Dosis von *Pneumococcus* I $\frac{1}{100000}$ Oese, von *Pneumococcus* II $\frac{1}{200}$ Oese und von *Pneumococcus* III $\frac{1}{50}$ Oese intravenös. Meerschweinchen mittleren Gewichts erlagen $\frac{1}{200}$ — $\frac{1}{300}$ Oese von *Pneumococcus* I und II und $\frac{1}{5}$ Oese von *Pneumococcus* III intraperitoneal. Huhn hat sich als immun erwiesen. Von *Streptococcus* I und II tötete $\frac{1}{200}$ — $\frac{1}{300}$ Oese intravenös Kaninchen durch Septikämie. Nach kleineren Dosen gingen sie oft marastisch zu Grunde. Von *Streptococcus* III wurde $\frac{1}{10}$ Oese mehrmals ertragen, doch folgte eine lange Abmagerungsperiode. Für Meerschweinchen waren alle Streptokokken wenig virulent. Nach Injektion von $\frac{1}{2}$ Oese intraperitoneal gingen die Tiere bisweilen ein. Das Huhn war immun. Die Untersuchungen umfassen Kaninchen, Meerschweinchen, Katzen und Hühner; also sowohl von Natur an empfindliche als immune Tiere. Um nicht

allzu viel mit Tabellen zu belasten, wird, wo die Befunde gleich waren, im allgemeinen nur ein Versuch wiedergegeben.

Tabelle IX.

Serum und Leukocyten eines normalen Kaninchens. Die Menge der Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt betrug 0,25 g. Einsaat: *Streptococcus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Kaninchenserum (= KS)	Etwa 1650	> 50 000	Vermehrung
1 „ KS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		> 50 000	„
1 „ KS-Leukocytenextrakt		> 25 000	„
1 „ Bouillon		> 25 000	„
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		2 040	880

Streptococcus I verhielt sich gleich. *Streptococcus* III wurde in 2 Versuchen auch vom Serum schwach beeinflusst.

Tabelle X.

Ausgewachsener Kater. Serum und Leukocyten; die Menge der letzteren betrug per Kubikcentimeter Extrakt 0,21 g. Einsaat: *Streptococcus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.	Nach 30 Std.
1 ccm Katzenserum (= KS)	Etwa 1250	5650	> 100 000	—
1 „ KS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		8967	> 100 000	—
1 „ KS-Leukocytenextrakt		688	13 735	> 25 000
1 „ Bouillon		7059	Vermehrung	—
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		728	224	560
1 „ do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		584	296	128

Tabelle XI.

Serum und Leukocyten vom Huhn. Die Menge der letzteren per Kubikcentimeter Extrakt = 0,18 g. Die Röhren wurden bei + 37° gehalten. Einsaat: *Streptococcus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Hühnerserum (= HS)	1500—1700	> 100 000	—
1 „ HS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		> 100 000	—
1 „ HS-Leukocytenextrakt		21	54
1 „ Bouillon		> 100 000	—
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		48	360
1 „ do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		736	1568

In einem Falle war das Leukocytenextrakt noch etwas wirksamer, in den meisten aber bedeutend schwächer oder sogar unwirksam.

Tabelle XII.

Serum und Leukocyten vom normalen Meerschweinchen. Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt = 0,23 g. Einsaat: *Streptococcus* III.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum (= MS)	2154 im Mittel	1 264	156
1 „ MS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		2 816	12 947
1 „ MS-Leukocytenextrakt		2 992	2 480
1 „ Bouillon		> 50 000	Vermehrung
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		50 943	„
1 „ do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		7 377	16 599

Tabelle XIII.

Serum und Leukocyten der mehrmals vorbehandelten Meerschweinchen No. 104, 105, 106, 109 und 113, welche alle vor ungefähr 3 Wochen eine große Agarkultur vom Streptococcus III bekommen hatten. Von den Tieren, die Leukocyten spendeten, wurde Serum nicht genommen. Die eingeklammerten Zahlen geben die Menge Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt an. Zum Vergleich sind die Sera zweier Normalmeerschweinchen mitgenommen. Einsaat: Streptococcus II.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Normalserum			3072	1 736
1 " "		} Etwa 6000	3952	2 032
1 " Immunserum 104			4080	2 272
1 " " 106			3696	1 204
1 " Bouillon			9126	Vermehrung
1 " (0,6) Bouillonleukocytenextrakt 105		} Etwa 1500	2918	30 900
1 " (0,5) " 109			4197	> 50 000
1 " (0,55) " 113			4642	> 50 000

Tabelle XIV.

Serum und Leukocyten von einem normalen Kaninchen. Menge der Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt = 0,27 g. Einsaat: Pneumococcus I.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 6 Std.	Nach 20 Std.
1 ccm Kaninchenserum (= KS)			> 100 000	—
1 " KS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		} 7200	> 100 000	—
1 " KS-Leukocytenextrakt			4 224	3
1 " Bouillon			> 100 000	—
1 " Bouillonleukocytenextrakt		} 6300	12 165	4
1 " " "			13 375	29

Tabelle XV.

Serum und Leukocyten des mit Pneumococcus II vorbehandelten Kaninchens No. 267, das vor 3 Wochen die letzte Injektion von $\frac{1}{2}$ ccm Bouillonkultur intravenös bekommen hatte. Menge der Leukocyten per Kubikcentimeter = 0,25 g.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
Pneumoc. I	1 ccm Kaninchenserum	2320	> 100 000	—
" II	1 " "	1784	> 100 000	—
" II	1 " "	—	> 100 000	—
" III	1 " "	5533	> 100 000	—
" II	1 " Bouillonleukocytenextrakt	1840	960	17
" II	1 " " "	—	784	8

Tabelle XVI.

Serum und Leukocyten einer ausgewachsenen großen Katze. Die Leukocyten waren recht stark mit roten Blutkörperchen gemischt, betrugen per Kubikcentimeter Extrakt 0,4 g. Einsaat: Pneumococcus II.

Inhalt der Röhren		Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.	Nach 30 Std.
1 ccm Katzenserum (= KS)			46 364	Vermehrung	—
1 " KS erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°		} Etwa 4000	> 50 000	"	—
1 " KS-Leukocytenextrakt			12 974	6	304
1 " Bouillon			> 50 000	Vermehrung	—
1 " Bouillonleukocytenextrakt			5 248	5	42
1 " do. erhitzt $\frac{1}{2}$ Std. bei + 58°			7 759	2	88

Tabelle XVII.

Großer Hahn. Serum und Leukocyten. Die Menge der letzteren per Kubikcentimeter Extrakt = 0,3 g. Einsaat: *Pneumococcus* II. Die Röhren wurden bei + 37° gehalten.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.	Nach 30 Std.
1 ccm Hühnerserum (= HS)	Etwa 3500	1 968	> 100 000	—
1 „ KS erhitzt ½ Std. bei + 58°		> 10 000	> 100 000	—
1 „ KS-Leukocytenextrakt		12	18	172
1 „ Bouillon		> 100 000	—	—
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		6 396	704	102
1 „ do. erhitzt ½ Std. bei + 58°		ca. 6 000	1 780	784

In den übrigen Versuchen war die Wirkung der Leukocytenextrakte bedeutend schwächer oder fehlte vollständig.

Tabelle XVIII.

Serum und Leukocyten vom Meerschweinchen. Die Menge der Leukocyten betrug 0,23 g per Kubikcentimeter Extrakt. Einsaat: *Pneumococcus* III.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.
1 ccm Meerschweinchenserum (= MS)	Etwa 7000	38 819	Vermehrung
1 MS erhitzt ½ Std. bei + 58°		> 50 000	„
1 „ MS-Leukocytenextrakt		ca. 40 000	13 456
1 „ Bouillon		> 50 000	Vermehrung
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		ca. 50 000	4
1 „ do. erhitzt ½ Std. bei + 58°		50 000	10

Tabelle XIX.

Serum und Leukocyten des mit *Pneumococcus* I vorbehandelten Meerschweinchens No. 136, das vor 2 Wochen zum letzten Male injiziert wurde. Menge der Leukocyten per Kubikcentimeter Extrakt = 0,25 g.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.	Nach 30 Std.
Pneumoc. I	1 ccm Meerschweinchenserum	2320	17 700	> 100 000	—
„ II	1 „ „	2607	> 20 000	> 100 000	—
„ III	1 „ „	4536	> 20 000	> 100 000	—
„ I	1 „ Bouillonleukocytenextrakt	6400	> 25 000	186	3

In den Pneumokokkenversuchen tritt eine Erscheinung zu Tage, die einer besonderen Erwähnung bedarf. Aus den in den Tabellen wiedergegebenen Zahlen der Plattenkolonien, ebenso wie aus der direkten mikroskopischen Beobachtung ging deutlich hervor, daß die Zahl der Keime nach 6 Stunden oder noch später öfters größer ist als sofort nach der Einsaat, um sodann rasch abzunehmen. Schon bei den Milzbrandversuchen beobachtete ich mehrmals auf den Platten nach 6—12 Stunden eine weit größere Zahl Kolonien als anfangs. Ich glaubte damals dieses Ereignis durch den Zerfall der Milzbrandketten erklären zu können. Ich habe aber an der Richtigkeit dieser Erklärung zu zweifeln begonnen, seitdem ich dieselbe Erscheinung auch bei den Pneumokokken beobachtete. Diese erfuhren nämlich keine Veränderung in Bezug auf die Anordnung, denn sie lagen immer zu zweien. Eine Vermehrung muß also tatsächlich angenommen werden. Unter solchen Umständen aber muß man in Erwägung ziehen, ob die nachfolgende Abnahme der Kokken

an Zahl wirklich von keimfeindlichen Substanzen hervorgerufen wird und nicht vielmehr dem gewöhnlichen Zerfallen der Bakterien in üppigen Kulturen nach dem Erreichen der Akme des Wachstums entspricht. Mehrere Tatsachen sprechen aber entschieden gegen die letztere Annahme. Erstens kommt es bei geringerer Einsaat nicht selten vor, daß diese anfängliche Vermehrung vollständig ausbleibt. Weiter ist es nicht gut denkbar, daß der Nährboden schon nach 6—10 Stunden erschöpft sein würde, da bei größerer Einsaat die Vermehrung größer sein kann und die Abnahme sogar ausbleiben dürfte. Eine Abnahme bis zu Null innerhalb 24 Stunden kommt wohl auch in keiner Kultur vor. Schließlich sind mikroskopisch öfters Veränderungen der Kokken wahrzunehmen, die auf eine besondere Schädigung der Zellen hindeuten, Veränderungen, die in gleich alten Kulturen nicht vorkommen oder bedeutend viel seltener sind. Die Kokken sind nämlich stark geschwollen und sehr schlecht oder gar nicht färbbar. Mit einem Erklärungsversuch der Keimabnahme durch Zerfall der Kokken auf Grund einer Erschöpfung des Nährbodens kommt man meines Erachtens hier nicht aus, sondern wird zu der Annahme gezwungen, daß die keimtötenden Stoffe so langsam wirken, daß eine Vermehrung anfangs nach der Einsaat stattfinden kann. Wahrscheinlich ist eine solche der Milzbrandbacillen unter ähnlichen Verhältnissen nicht ausgeschlossen. Die Veränderung der Kokken dürfte mit den von Wright beim Pestbacillus innerhalb der Zellen wahrgenommenen „äußerst charakteristischen Involutionsformen“ und der von mir bei Milzbrandbacillen in Leukocytenextrakten beobachteten Mißgestaltung analog sein. Von großem Interesse ist es nun, daß uns auch im Tierkörper Erscheinungen entgegentreten, die mit denen im Reagiergläschen offenbar zu vergleichen sind. Bei Milzbrandinfektion immuner Tiere kommen, wie Sobernheim (14) hervorhebt, Fälle vor, bei denen man eine anfängliche Vermehrung der Keime nicht verneinen kann, und bei gegen Hühnercholera immunisierten Meerschweinchen scheint nach Weil (15) dieses Ereignis Regel zu sein.

Eine keimfeindliche Wirkung der Leukocyten auf Streptokokken scheinen zuerst Denys und Leclef (4) beobachtet zu haben. Sie zentrifugierten mehrere Exsudate vom Kaninchen und fanden, „que la partie liquide de l'exsudat entrave considérablement le développement du streptocoque“. Serum und Leukocyten wirken auch keimtötend, während das Serum, das eine Zeitlang in Berührung mit den Leukocyten gewesen war, sowohl nach wie vor derselben sich als völlig unwirksam erwies. Sie ziehen daraus mit Recht folgenden Schluß: „Cette action (= die Bakterizidie) n'est pas le résultat d'une sécrétion, elle dépende de la présence même du globule.“

2 Jahre später konnte Bordet (5) die Beobachtungen Denys über die keimfeindliche Wirkung der zellenfreien Exsudatflüssigkeit auf die Streptokokken bestätigen, während auch er das Serum unwirksam fand. Daß die Leukocyten auch bei der Vernichtung der Pneumokokken eine Rolle spielen, geht aus den Versuchstabellen in der Arbeit von Mennes (6) hervor.

Diese Angaben, sowie die Ergebnisse meiner eigenen Versuche in Bezug auf die keimtötende Wirkung der Leukocyten stehen in schroffem Gegensatz zu den von Neufeld und Rimpau (8). Diesen Forschern „gelang es auf keine Weise, aus den Leukocyten Stoffe in Lösung zu erhalten, die, sei es für sich allein, sei es nach Hinzufügung des Immunkörpers in Gestalt spezifischen Serums ihren virulenten Strepto- und

Pneumokokken aufzulösen im stande waren“. Es ist nicht leicht, sich über die Ursache dieses Mißerfolges zu äußern, da sowohl Tabellen als genaue Angaben über die Versuche fehlen. Es scheint aber nicht unmöglich zu sein, daß die Beobachtungszeit zu kurz gewesen ist.

Nehmen wir also an, daß die Abnahme der Pneumokokken in den Leukocytenextrakten auf die Wirkung bakterizider Stoffe ankommt, so herrscht eine große Uebereinstimmung zwischen den Sera einerseits und den Leukocyten andererseits beziehentlich der Wirkung auf die beiden Kokken. Das Serum ist unwirksam, das Leukocytenextrakt aber wirkt mehr oder weniger stark keimtötend. Nur das Meerschweinchen macht eine Ausnahme. Die Streptokokken werden nämlich vom Serum stark beeinflusst, während das Leukocytenextrakt gänzlich unwirksam ist. Die Wirkung des Serums wird durch halbstündiges Erwärmen aufgehoben. Vielleicht sind diese bakteriolytischen Substanzen echte Serumalexine, obwohl ihre Wirkung bedeutend langsamer ist als die anderer Serumalexine und eine Vermehrung derselben während des Vorbehandelns nicht stattzufinden scheint. Im allgemeinen ist die Wirkung der Leukocytenstoffe allein ebenso groß oder sogar größer als bei Anwesenheit von Serum. Nur das Huhn macht hierin öfters eine Ausnahme. Vielleicht findet hier ein Komplettieren eines Serumimmunkörpers durch die Leukocyten statt, ebenso wie bei dem Aktivieren der Hühner- und Hundesera gegen Milzbrandbacillen durch die eigenen Leukocyten.

In ihrer Beziehung zu den Zellen stimmen die auf Strepto- und Pneumokokken wirkenden Leukocytenstoffe mit den gegen die Milzbrandbacillen wirksamen ganz überein. Sind die Leukocyten unbeschädigt, so gehen, wie der folgende Versuch zeigt, keine bakteriziden Stoffe in die umgebende Flüssigkeit über.

Tabelle XX.

Die Leukocyten, 0,4 g, von dem mit *Pneumococcus* II immunisierten Kaninchen No. 266 wurden nach gründlichem Waschen mit Kochsalzlösung in 1 ccm Bouillon aufgeschwemmt und $\frac{1}{2}$ Stunde bei + 37° belassen. Danach wurde zentrifugiert und die „Waschbouillon“ abpipettiert. Schließlich wurde 1 ccm frische Bouillon zum Bodensatz zugesetzt und Leukocytenextrakt in gewöhnlicher Weise durch Einfrieren bereitet.

Einsaat: *Pneumococcus* II.

Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 6 Std.	Nach 18 Std.	Nach 30 Std.
1 ccm Bouillon		> 30 000	Vermehrung	—
1 „ Waschbouillon	Etwa 4300	> 50 000	„	—
1 „ Bouillonleukocytenextrakt		472	3	3

Die unbeschädigten Zellen geben ihre keimtötenden Stoffe nicht ab. In Lösung kann man sie erst nach Zerstören der Leukocyten gewinnen. Deshalb habe ich für sie in Analogie mit den Endoenzymen und Endotoxinen den Namen Endolysine vorgeschlagen. Diese Beziehung der bakteriziden Leukocytenstoffe zur Zelle erklärt, daß die zellenfreie Exsudatflüssigkeit an Leukocyten reicher Exsudate, die ja immer zahlreiche zu Grunde gegangene Leukocyten enthalten, bakterizid wirkt, während das Serum unwirksam ist. Auch andere Erscheinungen, die später erwähnt werden, stehen mit diesem Verhältnis in innigstem Zusammenhang.

Für die Erklärung der Keimvernichtung bei dem unempfindlichen Huhn haben die vorigen Versuche keinen richtigen Anhaltspunkt gegeben, da die keimvernichtende Wirkung sowohl des Serums als der

Leukocyten oft fast gleich Null war. Nun sind aber diese Versuche mit den Verhältnissen im Körper des Huhnes auch nicht zu vergleichen. Sie wurden nämlich bei $+ 37^{\circ}$ angestellt. Bei $+ 42^{\circ}$ werden ganz andere Resultate erhalten.

Tabelle XXI.

Hühnerserum. Jede zu untersuchende Bakterie wurde in 2 Röhren eingesät. Die eine wurde bei $+ 37^{\circ}$, die andere bei $+ 41^{\circ}$ gestellt.

Einsaat	Inhalt der Röhren	Sofort	Nach 4 Std.	Nach 10 Std.
Streptococcus I	1 ccm Hühnerserum bei $+ 37^{\circ}$	4 500	33 000	Vermehrung
I	1 " " " $+ 41^{\circ}$		248	0
" III	1 " " " $+ 37^{\circ}$	3 500	40 000	Vermehrung
III	1 " " " $+ 41^{\circ}$		1 483	0
Pneumococcus I	1 " " " $+ 37^{\circ}$	10 100	12 783	Vermehrung
I	1 " " " $+ 41^{\circ}$		3	0
Bac. anthracis	1 " " " $+ 37^{\circ}$	1 000	4 515	$> 20\ 000$
" "	1 " " " $+ 41^{\circ}$		896	$> 20\ 000$

Das Serum und, wie andere Versuche gezeigt haben, auch die Leukocytenextrakte wirken bei der Körpertemperatur des Huhnes stark keimtötend. Zu diesem Ausfall dürfte, die Strepto- und Pneumokokken betreffend, die Temperatur allein in geringem Grade beitragen, da sie auch in Bouillon bei dieser Temperatur öfters sehr schlecht wachsen. Von weit größerer Bedeutung ist aber sicherlich die Verstärkung der Wirkung keimfeindlicher Substanzen, die, wie Kikuchi (16) hervorgehoben hat, höhere Temperaturgrade hervorruft. Die für die Immunität des Huhnes gegen Milzbrand mehrmals als bedeutungsvoll hervorgehobene nachteilige Einwirkung seiner hohen Körpertemperatur auf die Milzbrandbacillen ist unlängst wieder von Gruber und Futaki (13) für die Erklärung der Immunität ins Feld geführt worden. Ich kann diesen Herren darin nicht beistimmen. Wie Bail und ich (17) schon vorher hervorgehoben haben, wächst der Milzbrandbacillus gewöhnlich sehr üppig im Hühnerserum bei $+ 41$ bis 42° .

Ob bei dem Huhn das Serum oder die Leukocyten die Keimvernichtung besorgen, will ich vorläufig dahingestellt sein lassen. In Bezug auf die übrigen Tiere scheinen dagegen für eine Entscheidung in dieser Hinsicht keine größeren Schwierigkeiten obzuwalten. Um ein Anerkennen der Bedeutung der Leukocyten für die Keimvernichtung zu erreichen, ist es wohl nötig, keimtötende Stoffe bei ihnen nachweisen zu können. Jede Rede von Bakterizidie durch „die Lebenstätigkeit der Leukocyten“ ist offenbar in der Absicht entstanden, den Mangel an bakteriziden Substanzen zu bemänteln. Sehr befremdend muß auch die Annahme wirken, daß z. B. beim Meerschweinchen ein einziger Leukocyt innerhalb des Tierkörpers in kurzer Zeit im stande sein soll, mehrere Zehner Choleravibrionen oder Typhusbacillen zu digerieren, während das Extrakt ganzer Massen von Leukocyten außerhalb des Tieres gegen nur einige dieser Mikroben versagt. Ähnlich verhält sich das Meerschweinchen gegen die Streptokokken. Während das Serum stark bakterizid wirkt, sind gar große Mengen Leukocyten im Reagierglase nicht befähigt, eine kleine Anzahl Streptokokken zu töten. Mir scheint es keinem Zweifel zu unterliegen, daß in diesem Falle die Serumstoffe die Bakteriolyse verrichten.

Ganz anders bei den übrigen Tieren. Das Serum ist unwirksam, ein Behandeln mit Leukocyten verleiht ihm keine bakterizide Wirkung,

d. h. es findet keine Komplettierung von Serumimmunkörpern statt, und die Leukocytenstoffe allein entfalten — mit Ausnahme vom Huhn — ebenso starke Bakterizidie als bei Anwesenheit von Serum. Außerdem hat Besredka mit der Absorptionsmethode von Bordet-Gengou nachgewiesen, daß das Antistreptokokkenserum keine Ambozeptoren enthält. Unter solchen Umständen dürfte es völlig berechtigt sein, anzunehmen, daß das Serum sich bei der Keimvernichtung nicht direkt beteiligt. Das keimtötende Agens befindet sich dagegen in den Leukocyten.

Mit dem Feststellen dieser Tatsache ist für das Verständnis der Strepto- und Pneumokokkeninfektion bzw. -Immunität offenbar viel gewonnen. Ganz aufgeklärt wird sie aber nicht. Um dies zu erreichen, wird es nötig, auch die Eigenschaften des Serums zu berücksichtigen. Alle Beobachtungen scheinen darin übereinzustimmen, daß die Aufnahme der Kokken von den Leukocyten für das Ueberstehen der Infektion nötig ist, sonst tritt eine Vermehrung derselben ein, und das Tier geht ein. Theoretisch wäre es wohl denkbar, daß nach reichlichem Zerfall der Leukocyten ein Abtöten in der Körperflüssigkeit stattfinden könne. Dies scheint aber bei diesen Kokken gewöhnlich nicht einzutreffen. Sind sie im stande, die Angriffstätigkeit der Phagocyten zu lähmen, so ist ihre weitere Entwicklung gesichert, d. h. sie sind virulent. Auch Neufeld und Rimpau haben die Virulenz zu den Bakterienrezeptoren gelegt, welche die Aufnahme der Mikroben von den Phagocyten verhindert. Diese Rezeptoren werden durch das Serum besetzt, wonach die Phagocytose eintritt. Hiermit ist aber das Wesen der Virulenz dieser für die Wirkung der Endolysine empfindlichen Organismen nicht erschöpft. Wenn die Phagocyten nur wenig bakterizide Stoffe enthalten, so kann wenigstens unter ungünstigen Umständen die Abtötung der Keime ausbleiben, und sie fangen statt dessen an, sich zu vermehren und rufen bald eine Infektion hervor. Das Meerschweinchen ist eben deshalb hochempfindlich für Milzbrand, weil die keimtötende Wirkung seiner Leukocyten auf die Milzbrandbacillen sehr schwach ist, und aus derselben Ursache ist die Schutzwirkung des Milzbrandimmunserums bei diesem Tiere im allgemeinen gering. Schließlich kommt noch ein Umstand in Betracht. Bei einer gewissen Größe der Infektionsdosis ist es ganz notwendig, daß Leukocyten der Infektionsstelle zuströmen, damit die Leukocytenstoffe zum Vernichten der Bakterien wirklich langen. Die Leukocyten müssen angelockt werden, d. h. die Bakterien müssen Stoffe enthalten, die auf die Leukocyten anziehend wirken. Manchmal werden die Leukocyten von den Bakterien in dieser Beziehung nicht beeinflusst, wie die Kaninchenleukocyten vom Milzbrandbacillus. Ähnlich verhalten sie sich den Pneumokokken gegenüber. Bisweilen ruft die Bakterieninjektion sogar eine Leukopenie hervor. Ein Kaninchen von 1220 g mit 12350 Leukocyten pro Kubikmillimeter hatte 6, 12 und 24 Stunden nach der subkutanen Injektion von $\frac{1}{10}$ Oese *Pneumococcus III* 7500, 3900 und 3100 Leukocyten. Das Tier ging am 3. Tage ein. Der Mangel an Leukocyten ist für die Vermehrung der Bakterien ein günstiges Moment, trägt also zur Erhöhung der Virulenz bei.

Anfangs glaubte man öfters, daß die virulenten Bakterien giftiger wären als die nichtvirulenten. Dies hat sich aber nicht bestätigt. Virulente Typhusbacillen scheinen kaum giftiger zu sein als avirulente. In Bezug auf den Milzbrandbacillus und die ihm ähnlichen Organismen dürfte die Giftwirkung von ganz nebensächlicher Bedeutung für die

Virulenz sein. Hochvirulente Milzbandbacillen sind für das Kaninchen fast ungiftig. Man kann einem Kaninchen 5—6 große Agarkulturen Milzbrandbacillen intravenös und intraperitoneal injizieren, ohne daß das Tier schneller eingeht als nach einer Injektion von 2—3 Oesen. Bei Cholera und Typhus beruht der tödliche Ausgang auf der Giftwirkung der Bakterien. Doch hat die Höhe der Virulenz mit dieser wenig zu tun, sondern es kommt, wie Pfeiffer nachgewiesen hat, darauf an, daß die virulenten Stämme eine größere Menge Immunkörper binden oder mehr davon zur Lösung brauchen.

Vorher wurde erwähnt, daß Wright im Serum Stoffe nachgewiesen hat, die sogenannten Opsonine, welche die Phagocytose dadurch fördern, daß sie die Stoffe der Bakterien neutralisieren, welche die Angriffstätigkeit der Phagocyten lähmen. Aus den Untersuchungen von Issaeff, Denys und seinen Schülern, Bordet, Mennes, Huber, sowie Neufeld und Rimpau geht weiter hervor, daß während des Immunisierens eine Neubildung solcher Substanzen stattfindet. Offenbar ist die Schutzwirkung des Serums an diese Stoffe gebunden, die eine raschere und vollständigere Aufnahme der Bakterien von den Leukocyten bewirken. Wenn die Leukocyten auf die betreffenden Bakterien wirkende keimtötende Stoffe enthalten, so daß die Mikroben durch diese innerhalb der Zellen vernichtet werden, so tragen die erwähnten Substanzen indirekt zur Keimtötung bei, sonst nicht.

Selbstverständlich können uns auch im Reagiergläschen ähnliche Verhältnisse entgegentreten. So fand z. B. Mennes, daß weiße Blutkörperchen im Immunserum eines Kaninchens deutliche Bakterizidie der Pneumokokken entfalteten, während sie im Normalserum unwirksam waren. Offenbar war die Virulenz der Pneumokokken zu groß, als daß in dem an Opsoninen nur mäßig reichen Normalserum eine ausgiebigere Phagocytose stattfinden könne. Das von Denys beobachtete Fehlen von bakterizider Wirkung der Leukocyten in Normalserum dürfte auf ähnliche Weise erklärt werden können.

Auch in Bezug auf den Verlauf der Infektion und auf das Krankheitsbild zeigen die zwei Infektionstypen einige charakteristische Unterschiede. Bei Cholera und Typhus der Experimentiere ist die Infektionsdauer auch bei der kleinsten tödlichen Dosis verhältnismäßig kurz, etwa 24 Stunden, und die Symptome setzen bald ein. Bei intraperitonealer Infektion kann der tödliche Ausgang auch bei vollständiger Vernichtung der Keime eintreten. Anwesenheit von Leukocyten in der Bauchhöhle ist ein Zeichen leichter Infektion.

Die Infektion mit den Bakterien, die von den Serumbakteriolytinen nicht beeinflußt werden, verläuft, wenn nicht allzugroße Dosen injiziert werden, langsam. Der Tod des Kaninchens an Milzbrand kann nach Injektion kleiner Mengen vollvirulenten Materials erst in der 2. Woche stattfinden. Dabei können Krankheitssymptome anfangs fehlen, so daß das infizierte Tier gar nicht krank aussieht. Tödlicher Ausgang bei Vernichtung aller Keime ist meines Wissens nicht bekannt. Bei Infektion von der Bauchhöhle aus kann eine bedeutende Anhäufung von Leukocyten auch bei schwerer Infektion vorkommen.

Bei der sogenannten bakteriolytischen Immunität kommen als Ursachsmomente drei Substanzen in Betracht: die Serumbakteriolytine, die bakteriziden Leukocytenstoffe und die Opsonine. Die zwei ersten wirken

direkt keimtötend. Das letzte ruft Phagocytose hervor, trägt aber nur mittelbar zur Keimvernichtung bei. Die Serumlysine und die Oponine kommen beide regelmäßig im Serum vor, die bakteriziden Leukocytenstoffe dagegen gewöhnlich nur in den Zellen. Die zwei ersten erfahren während des Immunisierens eine bedeutende Vermehrung, die letzteren aber höchstens in beschränktem Grade. Gewisse Organismen werden durch die Serumlysine beeinflusst, z. B. *B. typhi*, *Vibrio cholerae* und *V. Metschnikoff*, andere, wie *B. anthracis*, *B. proteus*, *Streptococcus pyogenes* und *Diplococcus pneumoniae*, werden gewöhnlich nicht von dem Serum, sondern nur von den bakteriziden Substanzen der Leukocyten angegriffen.

Ein Typhus- oder Choleraimmunserum enthält bakterizide Immunkörper und Oponine. Bei verschiedener Immunisierungsweise dürften diese Stoffe in ungleich hohem Grade neugebildet werden. Wird die Vorbehandlung mit durch Hitze getöteten Bakterien unternommen, so scheinen hauptsächlich bakteriolytische Immunkörper zu entstehen. Werden aber von den betreffenden Bakterien hervorgerufene Exsudate (Aggressine Bails) dem zu immunisierenden Tiere injiziert, so wird ein an Oponinen reiches Serum erhalten. Auf den Gehalt des Serums an die Phagocytose fördernder Substanz kommt es an, ob bei Anwesenheit von Leukocyten die injizierten Vibrionen bezw. Typhusbacillen innerhalb oder außerhalb der Zellen aufgelöst werden. Ist das Serum reich an Oponinen, so setzt die Phagocytose sofort ein, und alle Bakterien werden in kürzester Zeit von den Phagocyten aufgenommen. Wenn das Serum dagegen arm an Oponin ist, wenigstens im Verhältnis zum Gehalt an Immunkörpern, so kann die Granulabildung schon weit fortgeschritten sein, ehe die Phagocytose beginnt. Der Einwand von Metschnikoff, daß das Ausbleiben der Körnchenbildung der Choleravibrionen im Blutplasma immunisierter Meerschweinchen den Mangel an bakteriolytischem Immunkörper beweist, ist deshalb nicht stichhaltig.

Unlängst ist von Weil (18) ein Versuch gemacht worden, zu zeigen, daß Choleravibrionen auch bei Abwesenheit von Komplement von den Leukocyten aufgenommen und aufgelöst werden. Er will damit zeigen, daß die Vibrionen durch die Wirkung der Leukocyten allein aufgelöst werden. Er gründet seine Schlußfolgerungen auf die Annahme, daß „in einer eitrigen Bauchhöhle wenig freies Komplement vorhanden ist“. Dies ist aber ohne Zweifel unrichtig. Wenn Vibrionen und Immunserum zusammen mit Leukocyten intraperitoneal injiziert werden, so beobachtet man bisweilen extracelluläre Granulabildung von einer Menge Vibrionen, die unter Umständen 4–5mal größer sein kann als bei Abwesenheit von Leukocyten. Es kann folglich keine Rede sein von Komplementmangel. Die Bauchhöhle dürfte übrigens noch reicher sein an Komplement bei der von Weil gewählten Versuchsanordnung, die eigenen Leukocyten des Versuchstieres durch Bouilloninjektion in die Bauchhöhle zu sammeln. Unter solchen Umständen müssen die Versuche, das Komplement aus der leukocytenreichen Bauchhöhle zu absorbieren, als gänzlich mißlungen angesehen werden, denn die zu diesem Zwecke benutzte Menge von Vibrionenextrakt genügt, wie er selbst betont, nicht zur vollständigen Absorption des Komplements in der normalen Peritonealhöhle. Schließlich ist auch die Annahme von Weil, daß die Leukocyten kein Komplement bilden, nicht bewiesen.

Milzbrand-, Streptokokken- und Pneumokokkenimmunsera enthalten dagegen entweder keine bakteriziden Immunkörper oder auch nur in

derselben Menge, wie das entsprechende Normalserum, dagegen sind sie reich an den Substanzen, welche die Phagocytose fördern.

Literatur.

- 1) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIX. — Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LXIII.
- 2) —, Ibid. Bd. XXXVI. p. 81.
- 3) Issaeff, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1893.
- 4) Denys et Leclef, La cellule. 1895. — Denys et Marchand, Bull. de l'Acad. R. de Belgique. 1896.
- 5) Bordet, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1897.
- 6) Mennes, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXV.
- 7) Huber, Berl. klin. Wochenschr. 1903.
- 8) Neufeld und Rimpau, Deutsche med. Wochenschr. 1904. p. 1458. — Zeitschr. f. Hygiene. Bd. LI.
- 9) Wright and Douglas, Proceed. Royal Soc. London. Vol. LXXII. 1904.
- 10) Leishman, Transact. path. soc. London. Vol. LVI.
- 11) Wright, Practitioner. 1904.
- 12) Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII.
- 13) Gruber und Futaki, Münch. med. Wochenschr. 1907.
- 14) Sobernheim, Milzbrandimmunität. (Kolle u. Wassermanns Handb.)
- 15) Weil, Arch. f. Hygiene. Bd. LIV.
- 16) Kikuchi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII.
- 17) Bail und Pettersson, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXV
- 18) Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.

Nachdruck verboten.

Ueber bakterizide Wirkungen von Lipoiden und ihre Beziehung zur Komplementwirkung¹⁾.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institut in Wien. Vorstand: Prof. Weichselbaum.]

Von Dr. Karl Landsteiner und Dr. Hans Ehrlich.

Frühere Untersuchungen über die Hämolyse durch Serum und Toxine hatten uns zu einer neuen Auffassung dieser Prozesse geführt, derzufolge die lipoiden Zellstoffe eine wesentliche Bedeutung für die Cytolyse²⁾ und auch für andere Arten von Toxinwirkung³⁾ haben. Im Verlaufe dieser Arbeiten haben wir uns mit der hämolytischen Wirkung von Organextrakten⁴⁾ beschäftigt und neue Anhaltspunkte dafür gewonnen, daß die hitzebeständigen hämolysierenden Stoffe dieser Extrakte

1) Anm. bei der Korrektur: Eine vorläufige Mitteilung der Resultate erschien in Wien. klin. Rundschau. No. 33. 18. August 1907. Seither erschien eine Arbeit von Noguchi, Biochem. Zeitschr. Bd. VI. 14. Okt. 1907, die auch die bakterizide Wirkung von Lipoiden behandelt.

2) Landsteiner und Jagić, Wien. klin. Wochenschr. 1904. Münch. med. Wochenschr. 1904. — L. und v. Eisler, Wien. klin. Wochenschr. 1905. Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIX. 1905. p. 309. — Landsteiner und Dantwitz, Hofmeisters Beitr. Bd. IX. p. 431.

3) Landsteiner und Botteri, Centr. f. Bakter.

4) Metchnikoff-Tarashevitch, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899. 1902. — Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902. — Donath und Landsteiner, Wien. klin. Rundschau. 1902. No. 40. Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIII. 1903.

den Lipoiden zugehören¹⁾. Eine solche Vermutung haben schon Kyes und Sachs²⁾ geäußert und kürzlich sprach sich Noguchi³⁾ in gleichem Sinne aus.

Wir fanden, daß aus hämolysierenden Milzextrakten (meist von menschlicher Milz) wirksame Stoffe nicht nur in Alkohol, sondern auch in Aether übergingen. Sie ließen sich ferner aus dem eingedampften Alkoholextrakt in Aether, Benzol, Chloroform, Petroläther aufnehmen. Verglichen wir die Wirkung der Extrakte auf die Blutkörperchen verschiedener Tierarten mit der von Lecithinemulsionen, so verhielten sich die Blutarten nach ihrer Empfindlichkeit gegen die beiden Agentien sehr ähnlich. So waren in beiden Fällen unter den geprüften Arten Kaninchen- und Meerschweinchenblut die empfindlichsten.

Korschun und Morgenroth haben schon erwähnt, daß die lösenden Stoffe sowohl der Kochsalzextrakte selbst, als der in Kochsalzlösung aufgenommenen alkoholischen Organextrakte in suspendierter Form vorhanden sind, da sie dichte Filter nicht passieren. Dieses Verhalten ist nach der gemachten Voraussetzung gut verständlich. Die Annahme gewinnt durch die folgende Beobachtung an Wahrscheinlichkeit. Die aufgekochten Milzextrakte wirken als Komplemente bei der Kobragifthämolyse (Hammelblut). Auch diese Eigenschaft, die einer Reihe fettartiger Stoffe zukommt, ging verloren, wenn die Extrakte durch dichte Papierfilter von den suspendierten Partikeln befreit wurden.

Im Anschluß an diese Beobachtungen gingen wir dazu über zu untersuchen, ob nicht auch die bakteriziden Wirkungen, die an tierischen Organen und Zellen festgestellt werden konnten, deren stoffliches Substrat aber unaufgedeckt blieb⁴⁾, zum Teil auf Lipoiden zu beziehen sein können.

Unter den bakteriziden Zellstoffen haben bisher namentlich die der Leukocyten und der lymphoiden Organe Aufmerksamkeit erregt. Wir heben von den Arbeiten, die sich mit diesen Stoffen beschäftigen, hier nur die der Metschnikoffschen Schule (Levaditi), die von Hankin, Denys, Hahn, Schattenfroh, Bail, Gruber hervor. Aus den Untersuchungen von Schattenfroh hatten sich als wichtigste Resultate Differenzen der Leukocytenstoffe und der Bakteriolyse sowie eine nicht unbeträchtliche Hitzebeständigkeit der bakteriziden Substanzen der Leukocyten herausgestellt.

Eine Reihe von Angaben liegt ferner über Bakteriolyse in Preßsäften verschiedenartiger Organe, Autolysaten von Organen und nach verschiedenen anderen Methoden aus tierischen Geweben dargestellten Präparaten vor⁵⁾.

Die zu beschreibenden Versuche haben die Berechtigung unserer Vermutung dargetan, daß zum mindesten in den zuletzt erwähnten Fällen diese Wirkungen fettartigen Stoffen zukommen. Bevor wir auf diese Ergebnisse näher eingehen, ist noch ein hier in Betracht kommender Umstand zu erwähnen, nämlich die Beziehung der Lipoiden zur sogenannten Komplementwirkung.

1) Diese Versuche wurden in Gemeinschaft mit Herrn Dr. Berzé ausgeführt.

2) Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 2—4.

3) Proceed. of the Soc. for exp. Biol. and Medic. Vol. IV. 20. Febr. 1907.

4) Wenn auch gelegentlich die Nukleinstoffe in Betracht gezogen wurden.

5) Conradi, Hofmeisters Beitr. Bd. I. 1901. p. 193, Turro u. A. Literatur bei Bayer, Sitzungsber. d. Kais. Akad. d. Wiss. in Wien. November 1906. Bd. CXV. Abt. III.

In den Untersuchungen von Kyes war im Anschluß an Beobachtungen von Calmette gezeigt worden, daß Lecithin in ähnlicher Weise wirken kann wie ein Serumkomplement, und Noguchi¹⁾ führte später den Nachweis, daß auch andere fettartige Substanzen, z. B. Triolein, statt des Lecithins zu solchen Experimenten verwendet werden können. Wir haben in einer früheren Arbeit²⁾ im allgemeinen bemerkt, daß sowohl diese Verhältnisse als auch die Zerstörung des Serumkomplementes beim Schütteln von Serum mit Aether und anderen fettlösenden Stoffen, ferner die Bindung von Komplement durch Protagon, Cholesterin darauf hin zu deuten scheinen, daß die Komplemente den Lipoiden nahestehen, vielleicht Lipoid-Eiweißverbindungen seien. Es kommt hinzu, daß im Serum hämolytische, fettähnliche Stoffe wirklich aufgefunden worden sind³⁾.

Die angeführte Hypothese würde sowohl die schon erwähnten Eigenschaften als auch die leichte Inaktivierbarkeit durch Erwärmen begreiflich machen, da in der Wärme eine Veränderung des Eiweißes im Sinne beginnender Koagulation und damit eine festere Bindung und Unwirksamwerden des Fettes stattfinden kann (vgl. die starke Adsorption von erhitztem, noch nicht sichtbar koaguliertem Serum durch Kaolin, Landsteiner und Stanković, Centr. f. Bakt. Ferner Cernovodeanu und Henri, Compt. rend. soc. biol. T. LVIII). Wirklich haben Noguchi⁴⁾ und Liebermann⁴⁾ vor kurzem gezeigt, daß fettartige hämolytische Substanzen durch die Kombination mit Serumeiweiß die Eigenschaft der Thermolabilität gewinnen. Eine im Wesen übereinstimmende Beobachtung machten übrigens schon Kyes und Sachs⁵⁾, als sie fanden, daß die Cobragift aktivierende Wirkung von Lecithin durch Zufügen von Hämoglobin und Erwärmen der Lösung auf 62° zerstört wird.

Wir haben ähnliche Versuche wie die genannten Autoren in Gemeinschaft mit Herrn stud. med. Pražek schon vor längerer Zeit ausgeführt und haben analoge Resultate erhalten.

0,1 Oelsäure wurden mit 10 ccm auf das 10-fache mit 1-proz. NaCl-Lösung verdünnt, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 60° erwärmtem Pferdeserum verrieben und geschüttelt, filtriert. Zur Prüfung auf Hämolyse wurden 1 ccm der Lösung mit 0,2 5-proz. gewaschenen Kaninchenblut versetzt.

Bei der Auswertung der hämolytischen Wirkung werden verschiedene Verdünnungsgrenzen erhalten, je nachdem man als Verdünnungsmittel das $\frac{1}{10}$ Pferdeserum oder 1-proz. NaCl-Lösung verwendet. Im ersten Fall war die letzte wirksame Verdünnung $\frac{1}{10}$, im zweiten Fall $\frac{1}{100}$. Es hemmt also Serum die blutlösende Wirkung.

Die folgende Tabelle gibt das hämolytische Verhalten beim $\frac{1}{2}$ -stündigen Erhitzen der mit $\frac{1}{10}$ Pferdeserum verdünnten ölsäurehaltigen Lösungen wieder. (Blutmenge wie oben. Ablesung nach 2 Stunden bei 37°, 10 Stunden Eiskasten.)

1) Journ. of exp. Med. Vol. VIII. 1906.

2) Landsteiner und Dautwitz, Hofmeisters Beitr. z. chem. Phys. u. Pathol. Bd. IX. 1907. p. 451. — Während der Drucklegung dieser Arbeit erschienen die Mitteilungen von Noguchi (l. c.) und Liebermann (Biochem. Zeitschr. Bd. IV. 1907. p. 25), in denen ähnliche Ansichten vertreten werden. (Der Liebermannsche Vergleich der Ambozeptoren mit Fettsäuren scheint uns wenig zutreffend zu sein.)

3) Wölfel, Journ. of infect. dis. 1905. — Levaditi, Compt. rend. soc. biol. T. LVIII. 1905. — Noguchi, l. c.

4) l. c.

5) Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 2—4.

Verdünnung	$\frac{1}{1}$	$\frac{1}{2}$	$\frac{1}{5}$
unerhitzt	kompl.	kompl.	kompl.
Erwärmung auf	55°	"	"
	60°	"	"
	65°	"	Spur
	70°	"	0
	80°	"	0

In ganz ähnlicher Weise wurde bei Lösungen von ölsauem Kalium die hemmende Wirkung von Serum auf die Hämolyse festgestellt. Auch hier wurde durch Erwärmen der Lösung von ölsauem Kalium in $\frac{1}{10}$ inaktivem Pferdeserum die hämolytische Wirkung aufgehoben. Beim Erhitzen der Mischungen auf 100° trat bisweilen in verschiedenem Grade wieder hämolytisches Vermögen auf.

Versuch: 0,1 ölsaures Kalium in 50 ccm $\frac{1}{10}$ inaktivem Pferdeserum. Ablesung nach 2 Stunden bei 37°:

unerhitzt	kompl.		
Erwärmung auf	55°	Spur	Erwärmung auf
	60°	"	
	65°	"	
			70° 0
			80° 0
			100° Spur

Die referierten Tatsachen, zu denen noch kommt, daß Noguchi (l. c.) an Seifen komplettierende Eigenschaften beobachtete, machen wohl insgesamt eine Beziehung der Komplemente zu Lipoiden im allgemeinen sehr wahrscheinlich und bahnen wohl die nähere Kenntnis dieser Stoffe an. Wir konnten allerdings, ähnlich wie Hecker (Arb. a. d. kgl. Inst. f. exp. Ther. Frankfurt. 1907. p. 39) uns nicht davon überzeugen, daß Seifen auf sensibilisierte Blutkörperchen so wirken wie Serumkomplemente. Darum möchten wir die Konstitution der hämolytischen Serumkomplemente noch nicht für völlig aufgeklärt halten, namentlich in Anbetracht der von Ehrlich, Morgenroth, Sachs u. A. nachgewiesenen Mannigfaltigkeit der Komplemente des Serums und ihrer zahlreichen, an Lösungen bekannter Zusammensetzung noch nicht realisierten Reaktionen¹⁾.

Die folgenden Versuchsprotokolle, aus denen die bakterizide Wirkung der lipoiden Organbestandteile hervorgeht, zeigen die Inaktivierbarkeit dieser Stoffe durch Erwärmen dann, wenn sie sich in eiweißhaltigen Lösungen befinden.

Je 5 g Milz wurden mit 5 ccm 1-proz. Kochsalzlösung verrieben, dann mit 50 ccm absolutem Alkohol behandelt, filtriert, davon für einen Versuch 10 ccm eingedampft, der Rückstand mit 3 ccm absolutem Alkohol aufgenommen, wieder eingedampft und nun der Rückstand in 1 ccm einer Mischung von $\frac{2}{3}$ 1-proz. NaCl-Lösung und $\frac{1}{3}$ Nährbouillon aufgenommen ($\frac{1}{3}$ B). Hier wie in allen ähnlichen Versuchen wurden Kontrollproben (mit Alkohol C. oder Aether C. bezeichnet) gemacht, die unter sonst gleichen Bedingungen nur Rückstände der entsprechenden Mengen der Extraktionsmittel enthielten. Es müssen möglichst reine Lösungsmittel verwendet werden, da sonst ihr Rückstand bakterizide Wirkungen haben kann.

Die Versuche wurden mit Hilfe der Zählung von Agarplatten vorgenommen. Ungleichheiten der Keimzahlen in den Ausgangsplatten können außer auf Versuchs-

1) Eine Diskussion der neuerdings von Neuberg und Reicher (Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 2, Biochem. Zeitschr. Bd. IV) vermuteten Beziehungen zwischen Serumhämolyse und Lipasenwirkung dürfte, wie die Verff. selbst meinen, wohl erst möglich sein, wenn ein größeres Versuchsmaterial vorliegen wird. Wie unsere Versuche über Kieselsäurehämolyse (l. c.) zeigten, ist für den Vorgang der sogenannten Amboceptorwirkung eine Fermentation zum mindesten nicht notwendig (wenn nicht etwa das anorganische Kolloid als Ferment wirken sollte).

fehlern wohl auch auf sofort einsetzender Bakterienabtötung, sowie auf agglutinierenden Wirkungen beruhen. Wegen der vorhandenen Fehlerquellen wurden, wie gewöhnlich bei solchen Untersuchungen, Schlüsse nur aus großen Differenzen gezogen.

Milzextrakte. Bac. anthracis.

	Keimzahl sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Menschenmilz	572	168	200
Schafmilz	640	178	84
Schweinemilz	688	292	160
Rindermilz	704	218	0
Rattenmilz	696	416	112
Alkohol C. 1)	1286	2040	4160
1-proz. NaCl-Lös.	1120	1240	1280

Rindermilzextrakt. Vibrio Massauah.

Rückstände teils wie oben emulgiert ($\frac{1}{3}$ B.), teils in 1-proz. NaCl-Lösung (NaCl).

	Keimzahl sofort	nach 4 Std.	nach 10 Std.
Milzextrakt NaCl	360	0	0
Milzextrakt $\frac{1}{3}$ B.	240	70	0
Alkohol C. NaCl	1460	16 000	18 000
Alkohol C. $\frac{1}{3}$ B.	1600	22 100	$\geq 30 000$
$\frac{2}{3}$ NaCl-Lös. + $\frac{1}{3}$ B.	1496	23 000	$\geq 30 000$

Rindermilzextrakt. Vibrio Massauah.

Inaktivierung in eiweißhaltiger Lösung durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen. Emulsion der Rückstände in inaktivem konzentrierten Rinderserum (RS.), $\frac{1}{10}$ inaktivem Rinderserum ($\frac{1}{10}$ RS.) und in Kochsalzlösung.

	Keimzahl sofort	nach 4 Std.	nach 10 Std.
Milzextrakt NaCl	200	0	0
" $\frac{1}{10}$ RS.	1120	50	0
auf 70° erwärmt	1500	10 400	30 000
Milzextrakt RS.	720	40	20
auf 58° erwärmt	240	2800	10 000

Eine größere Zahl von Versuchen machten wir mit den Ovarien von Fröschen, ein Material, mit dessen Hilfe Bayer²⁾ kräftige bakterizide Wirkungen erzielte. Bayer nahm auf Grund seiner eingehenden Versuche in den Kochsalzextrakten zwei verschiedene Bakteriolyse an, ein hitzelabiles und ein stabiles; die Existenz des thermostabilen Stoffes hielt er nach seinen Versuchen übrigens nicht für ganz sicher nachgewiesen. Die thermostabile Substanz fand Bayer in Alkohol als löslich, ohne jedoch daraus auf die chemische Beschaffenheit des aktiven Stoffes einen Schluß zu ziehen.

Nach unseren Ergebnissen wird es vermutlich nicht nötig bleiben, zwei verschieden wirkende Substanzen als vorhanden anzunehmen, da sich die von Bayer beobachteten Erscheinungen wahrscheinlich darauf zurückführen lassen, daß ein an sich thermostabiles bakterizides Lipoid durch die in der Lösung vorhandenen begleitenden Stoffe, z. B. Eiweißkörper, die Eigenschaft der Thermolabilität erlangen kann.

Zur Gewinnung der Extrakte wurden 10 g der Ovarien mit 10 ccm 1-proz. NaCl-Lösung verrieben und mit 100 ccm absolutem Alkohol behandelt, filtriert. 10 ccm des klaren Filtrates wurden für einen Versuch eingedampft, in 1 ccm Flüssigkeit aufgenommen und durch steriles Papier filtriert. Bei der Herstellung der Emulsion, z. B. in NaCl-Lösung, bleibt sehr viel Rückstand zurück und nur ein kleiner Teil geht in die Flüssigkeit. Das Filtrat ist trübe. Reaktion der Emulsionen neutral.

1) In $\frac{2}{3}$ NaCl-Lösung + $\frac{1}{3}$ Bouillon.

2) l. c.

Aufschwemmungen in NaCl-Lösung (NaCl), $\frac{1}{8}$ Bouillon ($\frac{1}{8}$ B.).

Alkohol. Ovarialextrakt. Bac. anthracis.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt $\frac{1}{8}$ B.	432	124	0	
Alkohol C. $\frac{1}{8}$ B.	860	1360	2440	
1-proz. NaCl-Lös.	1240	1680	2400	

Alkohol. Ovarialextrakt. Vibrio Massauah.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt NaCl	836	70	10	
Alkohol C. NaCl	960	5360	5360	
Ovarialextrakt $\frac{1}{8}$ B.	600	240	20	
Alkohol C. $\frac{1}{8}$ B.	2160	>30 000	>30 000	
1-proz. NaCl-Lös.	1120	6700	9380	

Alkohol. Ovarialextrakt. Staphylococc. aur.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt NaCl	1040	560	30	
Alkohol C. NaCl	1240	1526	1500	
Ovarialextrakt $\frac{1}{8}$ B.	820	960	>30 000	
Alkohol C. $\frac{1}{8}$ B.	1360	2000	>30 000	
1-proz. NaCl-Lös.	1120	960	1500	

Die Lipoidnatur der wirksamen Bestandteile der Ovarialextrakte wird dadurch noch wahrscheinlicher, daß diese Stoffe auch in Aether übergehen.

Es wurde 1 g Ovarium wie früher mit Alkohol extrahiert, der Rückstand des alkoholischen Extraktes mit 3 ccm reinem Aether aufgenommen, die Lösung filtriert, eingedampft und der Rückstand in 1 ccm Flüssigkeit emulgiert.

Aether. Ovarialextrakt. Bac. anthracis.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt NaCl	600	34	35	
Alkohol-Aether C. NaCl	900	1720	1800	
Ovarialextrakt $\frac{1}{8}$ B.	840	0	0	
Alkohol-Aether C. $\frac{1}{8}$ B.	780	1860	3000	
$\frac{2}{8}$ NaCl-Lös. + $\frac{1}{8}$ B.	960	3000	4000	

Die Ovarien verschiedener Frösche sind für die Versuche nicht gleichwertig, wie Bayer an Kochsalzextrakten, wir an alkoholischen Auszügen bemerkten.

Alkohol. Extrakte verschiedener Ovarien. Bac. anthracis.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt I $\frac{1}{8}$ B.	436	1128	1600	
„ II $\frac{1}{8}$ B.	104	8	4	
„ III $\frac{1}{8}$ B.	432	124	0	

Die folgenden mit alkoholischen Extrakten ausgeführten Versuche zeigen wieder das Unwirksamwerden der Extrakte beim Erwärmen in eiweißhaltigen Lösungen, nämlich bei einem Zusatz von Rinder Serum (RS.) oder Pferdeserum (PS.) in verschiedenen Mengen.

Das inaktive Serum wurde entweder zur Kochsalzemulsion zugefügt, oder es wurde der Rückstand der alkoholischen Extrakte in Serum verrieben und dann filtriert. Die Erwärmungszeit betrug $\frac{1}{2}$ Stunde. Die Temperatur ist in den Tabellen angegeben. (Unerhitzte Proben = akt)

Alkohol. Ovarialextrakt. Bac. anthracis.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.	nach 20 Std.
Ovarialextrakt NaCl		840	180	80
„ $\frac{1}{10}$ RS. akt.		700	200	100
„ $\frac{1}{10}$ RS. 60°		1060	920	1600
„ $\frac{1}{10}$ RS. 70°		800	1760	3400
$\frac{1}{10}$ RS.		680	1200	2800

Alkohol. Ovarialextrakt.		Vibrio Massauah.		
		Keimzahl	sofort	nach 4 Std. nach 20 Std.
Ovarialextrakt	NaCl		180	0
"	$\frac{1}{10}$ PS. akt.		800	700
"	$\frac{1}{10}$ PS. 60°		200	2400
"	$\frac{1}{10}$ PS. 70°		1600	3800
Ovarialextrakt	konz. RS. akt.		220	0
"	konz. RS. 58°		3000	30 000
konz. RS.			1000	12 400
				15 000

Wenn schon die bisher angeführten Versuche es sehr wahrscheinlich machen, daß die beobachteten Effekte fettähnlichen Stoffen zukommen, so wird diese Ansicht dadurch bekräftigt, daß es gelingt, ganz ähnliche Versuche mit fettartigen Substanzen bekannter Zusammensetzung anzustellen.

Es wurde 0,1 Oelsäure mit 10 cem 1-proz. NaCl-Lösung oder mit Rinder- oder Pferdeserumverdünnungen (in 1-proz. NaCl-Lösung) möglichst emulgiert, dann durch Filtrieren von größeren Tröpfchen befreit.

Oelsäure. Bac. anthracis.				
		Keimzahl	sofort	nach 4 Std. nach 20 Std.
Oelsäure	NaCl		520	150
"	$\frac{1}{10}$ RS. akt.		720	260
"	$\frac{1}{10}$ RS. 70°		720	2200
$\frac{1}{10}$ RS.			680	1200
				2800

Oelsäure. Vibrio Massauah.				
		Keimzahl	sofort	nach 4 Std. nach 7 Std.
Oelsäure	NaCl		240	0
"	$\frac{1}{10}$ PS. akt.		600	480
"	$\frac{1}{10}$ PS. 70°		1600	8000
"	$\frac{1}{10}$ PS. 80°		800	5360
"	$\frac{1}{2}$ RS. akt.		76	0
"	$\frac{1}{2}$ RS. 58°		650	21 400
				28 000

Die bisher wiedergegebenen Versuchsergebnisse genügen, um darzutun, daß aus tierischen Organen fettartige Stoffe zu extrahieren sind, die (auch bei neutraler Reaktion) zum Teil sehr kräftige bakterizide Wirkungen haben. Es ist nicht zu bezweifeln, daß viele der bisher beobachteten bakteriolytischen Wirkungen wässriger Organextrakte solchen Substanzen zuzuschreiben sind. Von dieser Feststellung ausgehend, schien es uns wichtig zu untersuchen, ob auch in jenen Geweben, deren bakterizide Eigenschaften nach den vorliegenden Kenntnissen für die Immunität gegen Infektionskrankheiten von beträchtlicher Bedeutung sind, lipide bakterizide Stoffe vorkommen. Wir wählten als Versuchsobjekt zunächst die milzbrandfeindlichen Stoffe des Knochenmarkes, die durch Bail und Pettersson einer eingehenden Untersuchung unterzogen worden sind¹⁾. In diesen Arbeiten wurde nachgewiesen, daß im Gegensatz zu anderen Geweben und Zellen, aus Leukocyten und dem Knochenmark mancher Tierarten auf Bac. anthracis und Bac. proteus sehr kräftig bakterizid wirkende Stoffe zu gewinnen sind, die ihre Wirkung namentlich dann äußern, wenn sie an sich unwirksamem Serum, z. B. Hühnerserum, zugesetzt werden. Aus diesem Grunde rechnen Bail und Pettersson die Substanzen den Komplementen zu. Die Stoffe gewinnen dadurch ein besonderes Interesse, daß sie gerade bei solchen Tieren, z. B. beim Huhn, in größerer Menge vorkommen, die eine hochgradige Resistenz gegen

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. u. ff. Vergl. Metchnikoff, L'immunité. p. 160.

die genannten Bakterien besitzen, so daß die erwähnten Autoren auf Grund ihrer Ermittlungen die Wirkungen der Knochenmark- und Leukocytenextrakte als Substrat der natürlichen Immunität in den untersuchten Fällen ansehen. Bail und Pettersson halten es für möglich, daß diese bakteriziden Stoffe während des Verlaufes von Infektionen in größeren Mengen aufzufinden sind und dann auch in das Blutserum übergehen und diesem bakterizide Eigenschaften verleihen können¹⁾. Die Substanzen unterscheiden sich unter gewissen Umständen, aber nicht immer durch eine höhere Thermostabilität von den Bakteriolyسين des Blutsera.

Wichtige Untersuchungen über die milzbrandfeindlichen Stoffe der Leukocyten machten ferner Gruber und Futaki²⁾. Sie fanden die Stoffe in großer Menge namentlich in den Leukocyten eines milzbrandresistenten Tieres, des Huhnes, und entdeckten eine andere Quelle derartiger Stoffe in den Blutplättchen. Aus den Leukocyten des Kaninchens waren die bakteriziden Körper bemerkenswerterweise am leichtesten durch Stauungslympe zu extrahieren.

Wir haben bei der Wiederholung der Versuche von Bail und Pettersson³⁾ über bakterizide Stoffe des Hühnerknochenmarks Resultate erhalten, die mit ihren Angaben gut übereinstimmen. Es zeigt sich, wie in den zitierten Versuchen, daß durch Zufügen von Knochenmark des Huhnes zu Hühnerserum dieses kräftig bakterizid wird, während es als solches reichliche Vermehrung der Anthraxbacillen zuläßt. Durch Erhitzen wird die Mischung inaktiv; die Inaktivierung erfolgt nicht immer gleich leicht (s. u.).

1 ccm frisches klares Hühnerserum (HS.) wurde mit 8 Oesen Hühnerknochenmark in der Reibschale verrieben, zentrifugiert (HS. + KnN. akt.), eine derartige Probe wurde durch 1 Stunde auf 58° erhitzt (HS. + KnM. inakt.). Eine Probe wurde mit Leber in derselben Weise hergestellt wie die Knochenmarkprobe (HS. + Leb.). In allen folgenden Versuchen sind nur die Keimzahlen nach 4-stündiger, nicht nach längerer Versuchsdauer angegeben, da später meist wieder die Zahl der Bakterien stark vermehrt und der bakterizide Effekt nicht mehr deutlich ist. Die einzelnen Proben enthalten 0,5 ccm Flüssigkeit. Diese und alle folgenden Versuche sind mit Milzbrandbacillen gemacht.

	Keimzahl sofort	nach 4 Std.
HS. akt.	380	3000
HS. + KnM. akt.	500	2
HS. + KnM. inakt.	600	5000
HS. + Leb.	380	3000

Der nächste, bisher erst einmal angeführte Versuch zeigt, daß ein Knochenmarkextrakt in Kochsalzlösung durch Behandeln mit Aether so verändert wird, daß er Hühnerserum nicht mehr bakterizid macht.

Das Knochenmark wird in gleicher Weise mit 1-proz. NaCl-Lösung behandelt wie früher mit Serum. Der zentrifugierte, vom Fett mechanisch möglichst befreite Extrakt mit der gleichen Menge frischen Hühnerserums versetzt (HS. + KnM. NaCl. akt.), eine gleiche Probe $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erhitzt (HS. + KnM. NaCl. inakt.). Eine andere Probe des Kochsalzextraktes wurde mit dem 5-fachen Volumen Aether geschüttelt, der Aether abgezogen, und der Rest des Aethers bei 37° vertrieben. Die wässrige Lösung dient zum Versuch (HS. + KnM. NaCl. extrahiert). Eine Probe bestand aus gleichen Teilen Hühnerserum und Kochsalzlösung (HS. + NaCl.).

1) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. p. 251.

2) Münch. mediz. Wochenschr. 1907. p. 249.

3) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXV. p. 102 u. ff.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. + NaCl akt.		100	2800
HS. + KnM. NaCl akt.		100	0
HS. + KnM. NaCl. inakt.		420	3500
HS. + KnM. NaCl extrahiert		300	3500

In den folgenden Versuchen prüften wir parallel die Wirkung von Serum- und Kochsalzauszügen des Hühnerknochenmarks, und von Aetherextrakten, die aus den Kochsalzauszügen hergestellt waren¹⁾. Zur Kontrolle nahmen wir wieder Rückstände entsprechender Aethermengen, die ganz gleich behandelt wurden, wie die Aetherextrakte.

HS. = Hühnerserum (akt. und inakt.), HS. + KnM. akt. und inakt. wie oben hergestellt. Ferner wurden 0,5 g Knochenmark mit 5 ccm 1-proz. NaCl-Lösung verrieben, zentrifugiert und eine entsprechende Menge dieses Kochsalzextraktes mit Hühnerserum versetzt (HS. + KnM. NaCl.). 2 ccm des Kochsalzextraktes wurden mit 10 ccm reinem Aether 5 Minuten lang geschüttelt, der Aether eingedampft, der Aetherrückstand wieder mit 10 ccm Aether aufgenommen, filtriert, eingedampft und dieser Aetherrückstand mit 1 ccm akt. Hühnerserum (für 2 Proben) verrieben (HS. + KnM. Aeth.). Hühnerserum + Kontroll-Aetherrückstand (HS. + Aeth. C.) Inaktivierung nach Mischung der Extrakte mit dem Serum durch $\frac{1}{2}$ -ständiges Erwärmen auf 58°.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. akt.		880	1600
HS. + KnM. akt.		700	23
HS. + KnM. inakt.		900	4000
HS. + KnM. NaCl. akt.		450	420
HS. + KnM. NaCl. inakt.		1200	2000
HS. + KnM. Aeth. akt.		1160	80
HS. + KnM. Aeth. inakt.		1400	4000
HS. + Aeth. C.		1200	1800

Der folgende Versuch gleicht dem eben beschriebenen, nur wurde zur Herstellung des Knochenmarkextraktes in NaCl-Lösung 1 g auf 5 ccm Lösung genommen, und aus diesem Extrakt dann auch der Aetherauszug hergestellt. Der Versuch enthielt auch Proben des Kochsalzextraktes ohne Serum (KnM. NaCl.), und des in Kochsalzlösung emulgierten Aetherextraktes (NaCl. + KnM. Aeth.).

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. akt.		820	3500
HS. inakt.		1200	2500
HS. + KnM. akt.		165	10
HS. + KnM. inakt.		980	65
HS. + KnM. NaCl. akt.		120	3
HS. + KnM. NaCl. inakt.		1200	2000
HS. + KnM. Aeth. akt.		720	30
HS. + KnM. Aeth. inakt.		1000	3500
KnM. NaCl.		700	860
NaCl. + KnM. Aeth.		560	600
HS. + Aeth. C.		900	3000

In den folgenden zwei Versuchen bedeutet HS. + KnM. eine zentrifugierte Verreibung von Knochenmark in Hühnerserum im Verhältnis 0,1:1. Zur Herstellung des NaCl-Extraktes wurden im zweitfolgenden Versuch 1,5 g, statt wie früher 1 g auf die gleiche Flüssigkeitsmenge verwendet. Es wurden ferner Proben des eingedampften Aetherextraktes nicht nur wie früher direkt in Hühnerserum verrieben, sondern andere Proben in NaCl-Lösung emulgiert und dann zu gleichen Teilen mit frischem Hühnerserum versetzt (HS. + NaCl KnM. Aeth.). Eine solche Probe wurde vor der Mischung mit Serum $\frac{1}{2}$ Stunde auf 58° erhitzt (HS. + NaCl KnM. Aeth. 58°). Die Inaktivierung der Serum enthaltenden Proben geschah durch 1-stündiges Erwärmen auf 58°.

Anordnung im übrigen wie im vorhergehenden Versuch.

1) Es ist zu bemerken, daß die Extraktionsversuche nur zum Teil gelangen und die näheren Bedingungen zur Erzielung konstanter Resultate noch festzustellen sind. Vielleicht ist auch die Beschaffenheit des Knochenmarkes von Wichtigkeit.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. akt.		900	5000
HS. inakt.		800	4500
HS. + KnM. akt.		60	3
HS. + KnM. inakt.		250	900
HS. + KnM. Aeth. akt.		340	55
HS. + KnM. Aeth. inakt.		900	5000
HS. + NaCl KnM. Aeth.		550	160
HS. + NaCl KnM. Aeth. 58°		220	160
HS. + Aeth. C.		1000	5000

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. akt.		560	1120
HS. inakt.		560	4200
HS. + KnM. akt.		80	0
HS. + KnM. inakt.		250	1000
HS. + KnM. NaCl. akt.		50	0
HS. + KnM. Aeth. akt.		380	14
HS. + KnM. Aeth. inakt.		400	2500
HS. + NaCl KnM. Aeth.		360	2
HS. + NaCl KnM. Aeth. 58°		480	9
NaCl. + KnM. Aeth.		60	0

In den folgenden zwei Versuchen kommen bei sonst gleicher Versuchsanordnung Proben vor, in denen den Flüssigkeiten gleiche Teile Bouillon zugesetzt wurden, und zwar Bouill. + NaCl, Bouill. + NaCl KnM. Aeth. Es wurde ferner durch $\frac{1}{2}$ Stunde erhitztes Hühnerserum (HS. 58) statt des frischen Serums verwendet.

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
HS. 58 + KnM. Aeth.		300	5
NaCl KnM. Aeth.		120	14
HS. 58 + NaCl KnM. Aeth.		180	2
Bouill. + NaCl KnM. Aeth.		460	1800
Bouill. + NaCl		700	3000

	Keimzahl	sofort	nach 4 Std.
KnM. NaCl		560	720
HS. 58 + KnM. Aeth.		350	12
NaCl KnM. Aeth.		530	600
HS. 58 + NaCl KnM. Aeth.		250	40
Bouill. + NaCl KnM. Aeth.		700	2000
Bouill. + NaCl		800	3000

Die beschriebenen Versuche zeigen, daß auch durch die Beimengung von ätherlöslichen Bestandteilen des Knochenmarkes aktives oder inaktives Hühnerserum bakterizide Eigenschaften erlangt¹⁾. Durch Erhitzen auf 58° wird die Wirkung von Hühnerserum und Aetherextrakt aufgehoben, hingegen ist die Erhitzung des Aetherextraktes und des Hühnerserums vor der Mischung ohne Einfluß, so daß hier wieder, wie in den oben angeführten Experimenten, die Inaktivierung von der gleichzeitigen Anwesenheit von Lipoidstoffen und Eiweißkörpern abhängig ist. Da in einer Anzahl von Versuchen die Aetherextrakte als solche nicht bakterizid sind und ebensowenig das Hühnerserum — das, wie eben bemerkt wurde, auch in erwärmtem Zustand angewendet werden kann — die Mischung beider Stoffe aber bakterizid wirkt, so liegen ähnliche Erscheinungen vor, wie bei der sogenannten Komplementwirkung. In dieser Weise deuten, wie erwähnt wurde, Bail und Pettersson ihre Versuche und nehmen im Hühnerserum den Immunkörper, im Knochenmark das Komplement an. Allerdings bemerkten auch Bail und Peterson, daß Knochenmarkextrakte ohne Serum eine gewisse, nicht

1) Ob diese Wirkung mit der des Knochenmarkes selbst, wie sie in den Versuchen von Bail und Pettersson sich zeigt, zu identifizieren ist, bleibt noch zu entscheiden und ebenso die Frage, ob nicht auch die Lipoiden anderer Organe (event. auch bei anderen Tierarten) sich ähnlich verhalten können.

starke bakterizide Wirkung haben können, wie sie vermuten, wegen der im Marke vorhandenen Serummengen. In unseren Versuchen fanden wir, daß auch die in NaCl-Lösung aufgenommenen Aetherextrakte für sich wirken können, daß sie aber in anderen Fällen keine deutlich nachweisbare Wirkung haben. Der Zusatz des Hühnerserums ist also den Versuchen zufolge für das Zustandekommen der Wirkung teils förderlich, teils notwendig, wobei in Betracht zu ziehen ist, daß im Hühnerserum selbst die Bakterien rasch an Zahl zunehmen, *ceteris paribus* also die bakterizide Wirkung vermindert erscheinen sollte. In dieser Beziehung ist namentlich der Vergleich zwischen den Proben Serum + Aetherextrakt und Bouillon + Aetherextrakt demonstrativ. Es ist noch darauf hinzuweisen, daß die anderen im ersten Teil dieser Mitteilung angeführten lipoiden bakteriziden Stoffe in ihrer Wirkung durch Serumzusätze beeinträchtigt werden, wahrscheinlich nicht nur durch die Wachstumsbeförderung, sondern auch durch einen direkten Einfluß des Serums auf die Fettsubstanzen, wie er sich auch bei der Hämolyse durch Lipoide nachweisen läßt (Noguchi, Liebermann, unsere Versuche). Nach dem Gesagten — da der dem Komplement vergleichbare Körper als solcher wirken kann — ist es jedenfalls nötig, die Rolle des Serums bei den geschilderten Vorgängen noch näher zu untersuchen¹⁾. Dessenungeachtet halten wir eine Verwandtschaft der beschriebenen Erscheinungen und der Serumbakteriolyse in ihrem Wesen für sehr wahrscheinlich und verweisen hier auf die früher von uns gegebene Erklärung der Komplementwirkung bei der Kobragifthämolyse, derzufolge der sogenannte Ambozeptor nur eine Verstärkung der Wirkung des an und für sich in geringem Maße blutlösenden Komplements herbeiführt²⁾.

Aus den mitgeteilten Untersuchungen geht hervor, daß lipoide Stoffe des Tierkörpers allein oder in Kombination mit Serum kräftige bakterizide Wirkungen ausüben können. Die Kombination Serum + Knochenmarklipoid verhält sich öfters analog wie ein sogenanntes komplexes Bakteriolyisin, da durch das Zusammentreten zweier unwirksamer Stoffe eine durch mäßiges Erhitzen inaktivierbare Mischung entsteht. Die Beobachtungen tragen insofern zur Aufklärung der sogenannten Komplementwirkung bei, als sie zeigen, daß die bakterizide Kombination Eiweiß + Lipoid in ähnlicher Weise arbeitet wie die Kombination Ambozeptor + Komplement oder solche Stoffe als Bestandteile enthalten. Es läßt sich daraus im Zusammenhalt mit anderen schon erwähnten Tatsachen schließen, daß die Bakteriolyse, wie wir schon früher annahmen³⁾, durch Einwirkung auf fettartige Teile des Bakterienleibes erfolgen kann, und daß die Komplemente auch des Blutserums vielleicht fettartige Stoffe sind.

Weitere Untersuchungen werden lehren müssen, ob der bakteriziden Wirkung durch Serum + Lipoid auch eine Bedeutung für die Abwehrvorrichtungen des Organismus gegen Infektionen zukommt.

1) Vgl. Gruber und Futaki, Deutsche med. Wochenschr. 1907. p. 1588.

2) Landsteiner und Jagić, Münch. mediz. Wochenschr. 1904.

3) Landsteiner und v. Eisler, Centralbl. f. Bakt. 1905. Bd. XXXIX. p. 309

Nachdruck verboten.

Ueber Toxine und Antitoxine des Cholera-vibrio. Experimentelle Grundlage einer antitoxischen Cholera-therapie.

[Aus dem staatlich-serotherapeutischen Institute in Wien
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. **R. Kraus** und k. u. k. Reg.-Arzt Dr. **V. K. Russ.**

Mit 2 Kurven.

Geschichtliches.

Im Jahre 1884 hat Koch (1) in der ersten Cholera-konferenz die Cholera asiatica als Toxikose charakterisiert, die durch ein vom Cholera-vibrio produziertes, spezifisches Gift hervorgerufen werden dürfte.

In den darauffolgenden Jahren versuchten eine Reihe von Forschern [Petri (2), Gamaleia (3), Westbrook (4), Brieger und Fraenkel (5)] dieses von Koch postulierte Gift nachzuweisen. Den Beweis für das Vorhandensein eines spezifischen Giftes in Kulturen des Cholera-vibrio vermochte aber keine dieser Arbeiten zu erbringen.

Bei kritischer Beleuchtung muß zunächst diesen Arbeiten gegenüber ein Haupteinwand erhoben werden. Es erscheint heute fraglich, ob die zu den Versuchen verwendeten Vibrionen wohl als Cholera-vibrionen hinzunehmen sein dürften. Wissen wir ja dank den Arbeiten Pfeiffers (6) wie viele Vibrionen in Laboratorien als Cholera-vibrionen auf Grund der kulturellen Merkmale angesehen wurden, deren Unechtheit erst später durch die biologischen Reaktionen festgestellt werden konnte.

Dazu kommt noch als ein ebenso wichtiges Argument, daß es nicht gelungen ist, die nachgewiesenen giftigen Stoffwechselprodukte als spezifische Toxine zu charakterisieren, da der Nachweis des Antitoxins nicht erbracht wurde.

Die Möglichkeit, in der gegebenen Richtung fruchtbringend und einwandfrei zu arbeiten, ist eigentlich erst durch die Arbeiten R. Pfeiffers geschaffen worden. Nachdem Pfeiffer durch die biologische Reaktion die Grundlage einer Cholera-diagnostik ausgearbeitet hatte, war die Identifizierung des Cholera-vibrio und dessen Differenzierung von artverwandten ermöglicht worden. In der Zukunft müssen demnach alle Arbeiten, die sich mit der Toxinbildung des Cholera-vibrio beschäftigen, in erster Linie zum Ausgangspunkt ihrer Untersuchungen Vibrionen benützen, welche allen Anforderungen der derzeitigen Cholera-diagnostik entsprechen. Die Vibrionen müssen nicht nur kulturell, sondern auch biologisch mittels des Pfeifferschen Versuches und mittels eines ausgewerteten agglutinierenden Choleraserums die Reaktionen des Cholera-vibrio aufweisen. Wenn diese Bedingung erfüllt ist und es dann gelungen ist, mit einwandfreiem Kulturmateriale giftige bakterienfreie Stoffwechselprodukte zu gewinnen, mit welchen man Tiere aktiv immunisieren kann, deren Serum dann diese Gifte spezifisch zu neutralisieren imstande ist — dann erst kann man mit Recht von einem Cholera-toxin sprechen.

Pfeiffers Arbeiten¹⁾ erfüllen wohl die Grundbedingung, indem die Versuche mit sichergestellten Cholera-vibrionen durchgeführt wurden, sie sind aber außer stande, für die giftigen Stoffwechselprodukte der Bouillonkulturen oder die Gifte der Bakterienleiber (endogene Gifte) die Toxinnatur zu beweisen. Pfeiffer konnte mit den im Bakterienleib nachgewiesenen giftigen Körpern weder Tiere aktiv immunisieren, noch ist es ihm gelungen, im Serum derart behandelter Tiere Antitoxine nachzuweisen. Wenn auch Pfeiffer selbst von sogenannten Endotoxinen spricht, so ist er sich wohl bewußt, daß diese Gifte streng zu sondern sind von den bakteriellen Toxinen, als deren wichtigstes Charakteristikum die antigene Eigenschaft bis heute noch Geltung hat.

Ransom (10) hat unter v. Behrings Leitung im Jahre 1895 Gifte eines Vibrio beschrieben, die wir ohne weiteres als Toxine anerkennen müssen, da es ihm gelungen ist, mit diesen Giften auch Antitoxine zu gewinnen. Ob aber der von Ransom benützte Vibrio ein Cholera-vibrio war, läßt sich aus der kurzen Mitteilung nicht erweisen. Ransom selbst macht keine näheren Angaben über diesen Vibrio.

Denselben Einwand kann man bei objektiver Beurteilung auch der ausführlichen Arbeit von Metschnikoff, Roux und Salimbeni (11) machen. Diesen Autoren ist es ebenso wie Ransom im Jahre 1896 gelungen, durch besondere Züchtungsverfahren Gifte in Kulturen zweier Vibrionen festzustellen, welche allen Anforderungen entsprechen, um als Toxine anerkannt zu werden. Leider fehlen auch hier nähere Angaben über die Charakterisierung dieser Stämme mittels biologischer Reaktionen²⁾.

Im Jahre 1903 konnte Kraus (13) zunächst in Filtraten aus Bouillonkulturen des Vibrio Nasik Gifte nachweisen, welche für Kaninchen, Meerschweinchen, Vögel sich giftig erwiesen und gegen welche Antitoxine erzeugt werden konnten.

Zwei Jahre später haben Kraus und Přibram (14), Kraus und Prantschoff (15) im Verlaufe systematischer Untersuchungen über Vibrionengifte bei einer ganzen Reihe anderer Vibrionen, welche ebenfalls wie der Vibrio Nasik aus Fäulen, die unter Darmerscheinungen gestorben waren, gezüchtet wurden, Toxine festgestellt. Durch diese Arbeiten ist sichergestellt worden, daß verschiedenartige Vibrionen giftige Stoffwechselprodukte produzieren, die wir als bakterielle Toxine anzusehen haben.

War es nach diesen Arbeiten sehr wahrscheinlich, daß auch die Cholera-vibrionen ebenso wie viele andere Vibrionen lösliche Toxine produzieren, so mußte doch noch der direkte Beweis erbracht werden.

Im März 1906 haben Brau und Denier in einer kurzen Mitteilung an die medizinische Akademie zu Paris berichtet, daß sie bei Vibrionen, welche kulturell und biologisch als Cholera-vibrionen bestimmt werden konnten, in besonderen Nährmedien giftige Stoffwechselprodukte nachweisen konnten, mit welchen es gelungen ist, Antitoxine zu erzeugen.

1) Die ersten Versuche Pfeiffers (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI), mit dem Vibrio Massauah angestellt, beweisen für die in Frage stehende Toxinbildung des Cholera-vibrio nichts, da ja Pfeiffer selbst den Vibrio Massauah später vom Cholera-vibrio zu differenzieren vermochte.

2) Der eine Stamm stammt von Pfeiffer (Herbstepidemie 1894); nähere Angaben, ob Pfeiffer später diesen Stamm als Cholera-vibrio auch durch den peritonealen Versuch verifiziert hat, fehlen. Den zweiten Stamm hat Nicolle in Konstantinopel gezüchtet und auch dieser Stamm ist nicht näher biologisch charakterisiert.

Wie aus der ausführlichen Mitteilung, die im selben Jahre in den *Annalen Pasteurs* erschienen ist, hervorgeht, besteht kein Zweifel darüber, daß *Cholera*vibrionen ein Gift produzieren, welches ebenso wie das *Diphtherie*-, *Tetanus*- und *Dysenterie*toxin ein spezifisches Produkt, das Toxin des *Cholera*vibrio, darstellt. Auf der ersten Tagung der freien deutschen Vereinigung für Mikrobiologie in Berlin 1906 konnte Kraus die Versuche von Brau und Denier, welche mit den ihm überlassenen Stämmen nachgeprüft wurden, bestätigen.

Die geschichtliche Darstellung dieses endlich nach jahrelangen Bemühungen zum Abschluß gebrachten Problems wäre nicht vollständig, wenn nicht im besonderen der in El Tor von E. Gotschlich (16) aus Stühlen dysenteriekranker Menschen gezüchteten Vibrionen Erwähnung geschehen würde. Diese sechs Vibrionen, welche Gotschlich durch kulturelle und biologische Methoden bestimmt als *Cholera*vibrionen beschrieben hat, produzieren, wie durch die von Kraus in Gemeinschaft mit E. Přibram (l. c.) ausgeführten Untersuchungen ermittelt werden konnte, lösliche Toxine. Diese Toxine sind, wie aus dem Folgenden hervorgehen wird, insofern von den *Cholera*toxinen der Saigonstämmen unterschieden, als sie sowie die bereits angeführten Vibrionentoxine nach intravenöser Injektion Kaninchen innerhalb weniger Minuten (5–15) töten, was bei den Toxinen der Saigonstämmen nicht zutrifft. Außerdem aber ist in den Filtraten der El Tor-Vibrionenkultur ein Hämotoxin neben dem akut wirkenden Toxin vorhanden, welches ebenfalls bei den toxinproduzierenden Saigonvibrionen bisher nicht nachgewiesen ist. Ob diese Vibrionen als toxinproduzierende *Cholera*vibrionen aufzufassen seien, oder, wie Kraus und Ruffer anzunehmen geneigt ist, als nahe verwandte Species, die in einem ähnlichen Verhältnis auch bezüglich ihrer Pathogenität zum *Cholera*vibrio stehen wie beispielsweise *Paratyphus*bacillen zum *Typhus*bacillus, muß vorderhand unentschieden bleiben.

Es erübrigt noch mit einigen Worten auf die bereits flüchtig gestreiften Endotoxine zurückzukommen. Wir haben uns dagegen ausgesprochen, daß die von Pfeiffer, Wassermann nachgewiesenen endogenen Gifte der Bakterienleiber¹⁾ als Endotoxine bezeichnet werden. Es muß Pfeiffer ohne weiteres zugestanden werden, daß die Leibessubstanzen des *Cholera*vibrio giftig für Meerschweinchen sind. Die durch Chloroform oder Wärme abgetöteten *Cholera*vibrionen töten Meerschweinchen unter gleichen Erscheinungen (Temperaturabfall, Lähmungen der Extremitäten) wie lebende Vibrionen. Mit diesen Giften gelang es aber nicht, Antitoxine zu gewinnen.

Demgegenüber zeigen Arbeiten von Besredka (l. c.) bei Typhus-, Dysenterie-, Pestbacillen und die von Macfadyen (l. c.) bei Typhusbacillen und beim *Cholera*vibrio, daß im Bakterienleib Gifte enthalten sind, mit welchen wohl Antitoxine erzeugt werden können. Hier interessiert uns speziell die Arbeit Macfadyens, welchem es gelungen ist, mit endogenen Giften eines Vibrio²⁾ neutralisierende Gegenkörper hervorzurufen.

1) Giftigkeit der Bakterienleiber des *Cholera*vibrio haben vor Pfeiffer bereits Cantani, Klemperer nachweisen können. Es ist fraglich, ob diese Autoren mit sicheren *Cholera*vibrionen gearbeitet haben.

2) Macfadyen bezeichnet seinen Vibrio als *Cholera*vibrio, ohne nähere Angaben zu machen, woher dieser Vibrio stammt und wie er identifiziert wurde. Wir müssen

Daß toxinproduzierende Bakterien in ihrem Körper auch noch endogenes Toxin enthalten können, wissen wir ja bereits seit Wassermanns Arbeit über den *Bacillus pyocyaneus*. Kraus und Doerr konnten zeigen, daß der *Bacillus dysenteriae* Shiga-Kruse auch noch in seinem Leib Toxin enthält, welches man durch Extraktion mit Wasser oder Autolyse nach Conradi und nachträgliche Filtration gewinnen kann. Dieses Dysenterietoxin ist identisch mit dem sezernierten oder in Bouillonfiltraten nachweisbaren Toxin, insofern als das Antitoxin beiderlei Gifte zu neutralisieren im stande ist. Es gibt Bakterien, wie beispielsweise Tetanus- und Diphtheriebacillen, deren Gifte in das flüssige Nährmedium vollständig abgegeben werden, der Leib enthält fast kein spezifisches Toxin. Dann gibt es aber Bakterien, wie der *Pyocyaneus-bacillus*, *Dysenteriebacillus*, welche Gift abgeben und welches in Lösung nachweisbar ist, andererseits aber auch in ihrem Leib noch Gift zurückhalten (Endotoxine). Zu diesen letzteren dürfte auch der *Cholera-vibrio* zu zählen sein. Wie in eigenen Versuchen gezeigt werden soll, lassen sich nicht nur endocelluläre, sondern auch ektocelluläre Toxine nachweisen. Da es auch gelungen ist, mittels Antitoxinen die Identität sehr wahrscheinlich zu machen, dürfte in Zukunft in dieser Richtung ein Unterschied zwischen Endo- und Ektotoxin nicht aufrecht zu erhalten sein.

Das Toxin des Cholera-vibrio.

Der historische Rückblick zeigt, daß der exakte Beweis für die Produktion eines löslichen Toxins des *Cholera-vibrio* erst durch Brau und Denier erbracht worden ist. Trotzdem, wie aus der objektiven Kritik der Arbeiten von Ransom, Metschnikoff, Roux und Salimbeni hervorgeht, die von diesen Autoren gefundenen Toxine nicht mit absoluter Sicherheit als Toxine des *Cholera-vibrio* anerkannt werden können, wollen wir die darüber vorliegenden Erfahrungen doch hier erörtern.

Das Gift von Ransom ist in Mengen von 0,5 für Meerschweinchen vom Gewichte von 250 g in 24 Stunden tödlich, in großen Dosen tötet es bereits in 3–4 Stunden. Dasselbe Gift ist für Kaninchen erst in Dosen von 4 ccm für Tauben, für weiße Mäuse überhaupt nicht wirksam. Das gefällte Toxin wirkt in Mengen von 0,1 subkutan für Meerschweinchen von 250 g in 15 Minuten, in Mengen von 0,085 in 30–60 Minuten, in Mengen von 0,07 in 12–14 Stunden tödlich.

Metschnikoff, Roux und Salimbeni haben ihre Gifte aus Vibrionen, welche Pfeiffer aus der Epidemie 1894 in Ostpreußen und Nicolle in Konstantinopel gezüchtet haben, gewonnen.

Die Giftbildung dieser Vibrionen wurde zunächst mittels der Züchtung in Kollodiumsäckchen nachgewiesen. Die nach Angaben von Roux und Nocard hergestellten Kollodiumsäckchen (3–4 ccm Inhalt) werden mit 2 Proz. Peptonwasser gefüllt, geimpft und ins Peritoneum des Meerschweinchens eingebracht. In 2–3 Tagen gehen die Tiere unter Hypothermie zu Grunde. Die kulturelle Untersuchung des Peritoneums ist negativ. Aus diesen Versuchen schließen die französischen Forscher, daß der *Cholera-vibrio* ein lösliches Toxin produziert. Diese Toxine können auch in vitro gewonnen werden. Im Nährboden (2 Proz. Peptonwasser + 2 Proz. Gelatine + 1 Proz. Kochsalzlösung), der in Petri-

daher dieselben Einwände gegenüber Macfadyen erheben, die einleitend anderen Autoren gemacht wurden.

Schalen verteilt wird, konnten nach 24 Stunden bis 3 Tagen (bei 37°) giftige Körper in Filtraten nachgewiesen werden. Diese Gifte töteten subkutan in Mengen von 0,25 ccm Meerschweinchen (300 g) in 18 Stunden, größere Dosen töteten schon in einigen Minuten. Die Tiere gehen unter Hypothermie unter gleichen Erscheinungen wie bei der Infektion zu Grunde. Im Peritoneum der Tiere ist klare Flüssigkeit, die Darm-schlingen sind gerötet, ebenso die Nebennieren. Das für Meerschweinchen wirksame Gift erweist sich für Kaninchen, Mäuse, Tauben, Hühner weniger wirksam.

Das Toxin ist sehr labil, wird durch Licht, Luft geschädigt. Ebenso wie Ransom, konnten auch Metschnikoff, Roux und Salimbeni durch Alkohol, Ammonsulfat das Gift konzentrieren.

Brau und Denier haben die löslichen Gifte mit biologisch bestimmten Choleravibrionen gewonnen, die aus Stühlen cholerakranker Menschen in Saigon gezüchtet wurden.

In alkalischer Martinscher Bouillon waren die Toxine schwächer, als wenn sie in dem eigens angegebenen Nährmedium gewonnen werden.

Der von Brau und Denier angegebene Nährboden hat folgende Zusammensetzung:

90 ccm normales (älteres) Pferdeserum	} 3 Stunden bei 60° erwärmt.
10 ccm defibriniertes (älteres) Blut	

Dieser Nährboden wird mit viel Kultur geimpft und öfters geschüttelt. Nach 7 Tagen (bei 39°) wird die Kultur entweder durch Papier, Chamberland F- oder Berkefeld-Filter filtriert. Das Filtrat tötet von 0,5—0,1 Meerschweinchen (250 g) bei subkutaner und peritonealer Injektion. Kaninchen gehen bei subkutaner Injektion von 15—20 ccm unregelmäßig erst in 3—4 Tagen zu Grunde. Eine bessere Wirkung hat die intravenöse Injektion, bei welcher 0,5—1,5 ccm in einigen Stunden Kaninchen tötet. Hund und Pferd sind ebenfalls empfindlich. Dagegen ist die Maus unempfindlich.

Betreffs weiterer Eigenschaften geben Brau und Denier die hohe Resistenz gegen höhere Temperaturen an, erst bei 120° nach 15 Minuten fanden sie das Gift unwirksam. Ein erwärmtes Gift erwies sich für Meerschweinchen wirksam, dagegen hat es seine Giftigkeit für Kaninchen verloren. Die Autoren nehmen deshalb an, daß es sich hier um ein thermolabiles und ein thermostabiles Gift handeln dürfte.

1) Charakterisierung der zur Toxindarstellung verwendeten Choleravibrionen.

Wie einleitend bemerkt wurde, ist es notwendig, die Kriterien, welche zur Charakterisierung von Choleravibrionen aufgestellt worden sind, bei der Lösung der Frage nach der Toxinproduktion strenge einzuhalten. Wir haben deshalb die zu Untersuchungen herangezogenen Vibrionen nicht nur kulturell, sondern auch biologisch geprüft, ehe wir die Stämme zum Studium der Toxinfrage verwendet haben. Zunächst gelangten die uns von Herrn Dr. Salimbeni freundlichst überlassenen 4 Stämme (Saigon) von Brau und Denier zur Untersuchung. Diese Stämme sowie auch die von Dr. Wladimiroff in Petersburg und Prof. Dunbar in Hamburg zur Verfügung gestellten Choleravibrionen haben kulturell und morphologisch die Eigenschaften der Choleravibrionen aufgewiesen und konnten, wie die folgende Tabelle I zeigt, agglutinatorisch und auch durch den Pfeifferschen Versuch als biologisch identisch mit dem Choleravibrio Koch gefunden werden. Auch

Tabelle I.
Cholera-vibrionen ohne Hämotoxin mit Toxinproduktion.

Herkunft	Name	Agglutination mit Cholera- serum	Hämotoxin in Bouillon	Verhalten auf der Ziegenblut- agarplatte
Brau u. Denier Dr. Salimbeni	Saigon I	1:4000	kein Hämotoxin nachweisbar	Aufhellung findet nach 48 Std. nicht statt
	" G	1:4000		
	" K	1:4000		
	" L	1:4000		
Rußland Dr. Wladimiroff	Saratow S 10	1:6000	do.	do.
	Persien R	1:6000		
	Tiflis 13	1:6000		
	" 12	1:6000		
Hamburg Prof. Dunbar	Fernandez	1:4000	do.	do.
	Gaffky 216	1:6000		
	Kuhale	1:4000		
	Kolle-Flügge	spontan agglut.		
	Zalusky	1:4000		

nach der Pathogenität, welche an Meerschweinchen geprüft wurde, entsprachen, wie die folgende Tabelle II zeigt, die Vibrionen den gestellten Forderungen. Die Reaktion auf Hämotoxine, welcher nach unseren früheren Arbeiten eine differentialdiagnostische Bedeutung zuzusprechen ist, fiel ebenso negativ aus wie bei den sicher anerkannten Cholera-vibrionen (siehe auch Tabelle I).

Tabelle II.

Menge der Kultur	Name der Kultur	Tierart	Injektions- modus	Resultat
1 Oese	Cholera Pfeiffer	Meerschweinchen	peritoneal	+ in 24 Stunden
$\frac{1}{3}$ "	" "	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{4}$ "	" "	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{10}$ "	" "	"	"	+ in 48 "
1 "	Saigon G	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{2}$ "	" "	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{10}$ "	" "	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{2}$ "	Saigon K	"	"	+ in 24 "
$\frac{1}{10}$ "	" "	"	"	+ in 48 "
2 Oesen	Cholera Pfeiffer	"	subkutan	+ in 72 "
3 "	" "	"	"	+ in 48 "
4 "	" "	"	"	+ in 10 "
2 "	Saigon K	"	"	lebt
3 "	" "	"	"	"
$\frac{1}{2}$ Oese	Cholera Zalusky (Hamburg)	"	peritoneal	+ in 24 Stunden
$\frac{1}{10}$ "	do.	"	"	lebt
$\frac{1}{2}$ "	Cholera Gradeny (Hamburg)	"	"	+ in 24 Stunden
$\frac{1}{10}$ "	do.	"	"	lebt
$\frac{1}{2}$ "	Cholera Saratow (Rußland)	"	"	+ in 24 Stunden
$\frac{1}{10}$ "	do.	"	"	+ in 48 "

Danach ist es wohl sichergestellt, daß die Vibrionen von Brau und Denier ebenso wie die aus Hamburg und Rußland bezogenen Stämme als Cholera-vibrionen anzusehen sind, da sie allen Bedingungen der modernen Cholera-diagnostik entsprechen.

2) Die Gifte der Saigonstämme, deren Darstellung und Eigenschaften.

Zur Gewinnung von löslichen Giften dieser Vibrionen wurden zunächst die Nährmedien benutzt, in welchen wir erfahrungsgemäß mit anderen toxischen Vibrionen Toxine und Hämotoxine nachweisen konnten. (Die zu diesen Versuchen verwendete Bouillon ist eine Fleischbouillon, von fettfreiem Rindfleisch gewonnen, mit einem Zusatz von 1½ Proz. Witte-Pepton und 1 Proz. Kochsalz. Die Alkaleszenz der Bouillon wurde variiert. Die Impfung erfolgt mit einer 24-stündigen Agarkultur. Die Vibrionen werden auf schiefem Agar bei 37° gezüchtet und wöchentlich überimpft.)

Tabelle III.

Wirksamkeit von Reichel-Filtraten verschiedenaltiger und verschieden alkalischer Bouillonkulturen.

Stamm	Alter der Kultur bei 37°	Menge	Resultat
a) Vom Phenolphthaleinpunkt zugesetzt 2,4 ccm 5-proz. NaOH pro Liter.			
L	8 Tage	3 ccm	† ¹⁾
			lebt
	11 "	3 "	"
	19 "	3 "	†
	18 "	3,2 "	†
	2 Tage später das Toxin geprüft	3 "	†
		2 "	lebt
Derselbe Kolben	10 Tage	3 ccm	†
	12 "	2 "	†
		1 "	lebt
	19 "	2 "	†
K	5 "	5 "	† in 5 Stunden
		2 "	† in 18 "
		3 "	† nach 12 Tagen
Derselbe Kolben	8 Tage	3 ccm	lebt
	11 "	3 "	†
		1 "	lebt
	19 "	3 "	† in 24 Stunden
		1 "	lebt
G	5 Tage	2 ccm	nach 24 Std. krank } lebt
		1 "	
	10 "	2 "	†
		1 "	†
	15 "	3 "	†
b) Vom Phenolphthaleinpunkt 3 ccm 5-proz. NaOH.			
G	17 Tage	3—2—1 ccm	†
K	17 "	5—1 ccm	lebt
c) Lackmusneutralpunkt.			
G	5 Tage	2,1 ccm	lebt
	10 "	2,1 "	†
	15 "	2,1 "	†
d) Vom Lackmusneutralpunkt 10 ccm normale Sodalösung.			
K	10 Tage	5,2 ccm	lebt
L	10 "	3,1 "	†
G	10 "	2,1 "	†
K	10 "	2,1 "	†

1) Innerhalb 24 Stunden.

Wie aus den vorstehenden Tabellen (III) hervorgeht, lassen sich in Filtraten, gewonnen durch Filtration verschiedenaltiger und verschieden alkalischer Bouillonkulturen, durch ungebrauchte Reichel-Filter Flüssigkeiten gewinnen, die Meerschweinchen im Gewicht von 180 bis 200 g bei peritonealer Applikation innerhalb weniger Stunden schon schwer schädigen und töten.

Nach unseren Erfahrungen hat sich diejenige Bouillon, welcher man vom Lackmusneutralpunkt 10 ccm Normalsodalösung pro Liter zusetzt, als optimaler Nährboden erwiesen (siehe Tabelle III und IV). In dieser Bouillon findet man nach 5—10—15 Tagen und noch älteren Kulturen die wirksamsten Gifte. Das zeitliche Optimum, an welches die höchste

Tabelle IV.

Einfluß der Verschiedenheit der Alkaleszenz.

(Kultur karbolisiert, durch Papier filtriert, geprüft intraperitoneal an Meerschweinchen.)

Art der Bouillon	Stamm	Alter der Kultur	Injektionsmenge	Resultat
10 ccm Normalsodalös. auf 1 l lackmusneutraler Bouillon	Saigon K	7 Tage	3 ccm	†
		8 "	1 "	lebt
		10 "	3 "	"
		10 "	1 "	"
		19 "	3 "	†
		19 "	1 "	†
	Saigon L	8 "	3 "	†
		10 "	2 "	†
		10 "	3 "	†
		19 "	1 "	†
		19 "	3 "	†
		19 "	2 "	†
	Saigon G	7 "	3 "	lebt
		11 "	1 "	"
		(Reichel-Filter)	3 "	†
		34 Tage (do.)	1 "	†
2,4 ccm 5-proz. NaOH auf 1 l phenolphthalein- neutraler Bouillon	Saigon K	10 Tage	2 ccm	†
		19 "	3 "	†
		19 "	2 "	lebt
	Saigon L	10 "	5 "	†
		19 "	2 "	lebt
		19 "	3 "	†
	Saigon G	10 "	2 "	lebt
		10 "	5 "	krank, erholt sich
		17 "	2 "	lebt
		17 "	3 "	"
3 ccm 5-proz. NaOH auf 1 l phenolphthalein- neutraler Bouillon	Saigon K	17 Tage	2 "	"
			3 ccm	†
	Saigon G	17 "	1 "	†
			3 "	†
Lackmusneutrale Bouil- lon	Saigon G	5 Tage	1 "	†
		(Reichel-Filter)	3 ccm	krank, erholt sich
		10 Tage (do.)	1 "	lebt
		10 Tage (do.)	2 "	†
		15 Tage (do.)	1 "	†
		15 Tage (do.)	2 "	†

Toxinproduktion geknüpft ist, konnten wir trotz darauf hingerichteter Untersuchungen nicht feststellen (Tabelle V).

Tabelle V.

Toxizität verschieden-altriger Bouillon(Soda)-Kulturen, geprüft an Meerschweinchen.
(Intraperitoneale Injektion der karbolisierten und durch Papier filtrierten Kulturen.)

Stamm	Alter der Kultur	Menge der Injektion	Resultat
Saigon K	5 Tage (7. Mai—12. Mai)	3 ccm	† in 5 Stunden
		2 "	† in 18 "
		1 "	† in 24 "
Saigon K	5 Tage (9. Mai—14. Mai)	3 "	† in 24 "
		2 "	† in 24 "
Saigon K	7 Tage (21. Juli—28. Juli)	3 "	† in 24 "
		1 "	bleibt am Leben
Saigon K	8 Tage (11. Juni—19. Juni)	3 "	" " "
Saigon L	8 Tage (28. Juli—6. Aug.)	3 "	† in 24 Stunden
		1 "	† in 24 "
Saigon L	8 Tage (7. Mai—15. Mai)	3 "	† in 24 "
		2 "	† in 24 "
Saigon L	10 Tage (29. Juni—9. Juli)	3 "	† in 24 "
		2 "	† in 24 "
Saigon L	10 Tage (13. Jan.—23. Jan.)	3 "	† in 24 "
		1 "	† in 24 "
Saigon K	11 Tage (5. Febr.—16. Febr.)	3 "	† in 24 "
		2 "	† in 24 "
Saigon K	11 Tage (11. Juni—22. Juni)	3 "	† in 48 "
		1 "	bleibt am Leben
Saigon L	11 Tage (11. Juni—22. Juni)	3 "	" " "
Saigon L	18 Tage (7. Mai—25. Mai)	3 "	† in 24 Stunden
		1 "	bleibt am Leben
Saigon L	18 Tage (29. Juni—17. Juli)	3 "	† in 24 Stunden
		2 "	† in 24 "
Saigon L	19 Tage (11. Juni—30. Juni)	3 "	† in 24 "
		1 "	† in 24 "
Saigon K	19 Tage (11. Juni—30. Juni)	3 "	† in 24 "
		1 "	bleibt am Leben

Es scheint aber, wie die folgende Tabelle VI, aus welcher die Alkaleszenzveränderungen einer Bouillonkultur (Stamm Saigon G) nach verschiedenen Zeiten zu entnehmen sind, zeigt, daß mit der Zunahme der Alkaleszenz auch eine Zunahme der Toxizität konstatiert werden kann. Gleichzeitig zeigt dieser Versuch, daß in Bouillonkulturen innerhalb von 15 Tagen ziemlich viel Alkali gebildet wird.

Eine Serie von 6 Kölbchen mit ca. 200 ccm Diphtheriebouillon (Soda) werden mit Stamm Saigon G beimpft und bei 37° gehalten. Nach 5, 10 und 15 Tagen werden je 2 Kölbchen (bezeichnet a und b) aus dem Thermostaten genommen, 5 ccm auf die Alkaleszenz für Phenolphthalein geprüft, der Rest karbolisiert (0,5 Proz.) Durch intraperitoneale In-

jektion der durch Papier filtrierten Kultur wird dann die Toxizität für Meerschweinchen bestimmt.

Tabelle VI.

Alter der Kultur	Alkaleszenzgrad in $\frac{1}{10}$ ccm Normal-HCl vom Neutralpunkt		Injizierte Menge	Resultat	
	Kölbchen a	Kölbchen b		Kölbchen a	Kölbchen b
5 Tage	0,15	0,1	2 ccm	lebt	lebt
10 "	0,35	0,25	2 "		
15 "	0,85	0,75	2 "	† in 4 Std.	† in 4 Std.

Aus diesem Versuche geht auch hervor, daß, wie schon bei anderen Bakterien bekannt, innerhalb ursprünglich gleichartiger Nährflüssigkeit in verschiedenen Kulturgefäßen nicht unbeträchtliche Schwankungen in der Alkalibildung beim Wachstum nachweisbar sind.

Die Gifte, durch Papierfiltration karbolisierter Kulturen gewonnen, erwiesen sich viel wirksamer als die durch Reichel-Kerzen gewonnenen Filtrate. Jedenfalls empfiehlt sich diese Art der Filtration viel mehr als die durch Bakterienfilter.

Ebenso wie schon Ransom, Metschnikoff, Roux und Salimbeni, konnten auch wir die Labilität dieser Toxine wahrnehmen. Wie aus folgender Tabelle VII hervorgeht, ändert sich die Toxizität dieser Gifte sehr rasch, so daß das Arbeiten äußerst erschwert wird.

Es erinnert die Zersetzlichkeit dieser Gifte an die der flüssigen Tetanustoxine (Spasmin, Hämotoxin) und auch an die Typhusgifte, welche Kraus gemeinschaftlich mit v. Stenitzer seit längerer Zeit bereits studierte.

Vielfach dürfte auch die Labilität dieser Gifte durch eine individuelle Resistenz der Versuchstiere diesen Toxinen gegenüber vorgetäuscht werden. Gerade diese Tatsache scheint uns besonders beachtenswert zu sein, weil möglicherweise in der Nichtberücksichtigung dieser Erscheinung bei Antitoxinversuchen große Trugschlüsse unterlaufen können.

Ob man durch bestimmte Zusätze oder durch Fällungen die Gifte besser konservieren kann, darüber fehlen bisher Erfahrungen. Ransom, Metschnikoff, Roux und Salimbeni konnten durch Alkohol, Ammonsulfat ihre Gifte fällen und auf diese Weise viel wirksamere gewinnen. (Ransoms Gifte wirkten noch in Mengen von 0,07 ccm tödlich.)

Es ist wahrscheinlich, daß ebenso wie bei den Diphtherie- und Dysenteriebacillen große Unterschiede in den toxigenen Eigenschaften bestehen, auch für die Choleravibrionen es zutreffen dürfte. Es wird eben Vibrionen geben, die einmal in der Kultur mehr, ein andermal weniger lösliches Toxin bilden dürften.

Nach peritonealer Injektion größerer Dosen des Giftes (2—3 ccm) gehen die Meerschweinchen schon nach 5 Stunden zu Grunde, bei kleineren Mengen (1—0,5 ccm) erst innerhalb von 24 Stunden. Auch bei intravenöser Injektion tritt der Tod der Tiere nicht früher auf als bei peritonealer Applikation. Subkutan wirkt das Gift viel schwächer.

Die peritoneal und intravenös injizierten Tiere gehen unter gleichen Erscheinungen wie bei der Infektion mit Choleravibrionen (Lähmungen,

Tabelle
Abschwächung

Stamm	Alter der Kultur	Alkaleszenz der Bouillon	1. Prüfung
Saigon L	8 Tage	Diphth.- ¹⁾ (Soda-)Bouillon (Reichel-Filter)	6./8. 3 ccm, + 7./8. 1 „ + 7./8.
	10 „	do.	16./2. 1 ccm, + 17./2.
	10 „	do.	14./8. 2 ccm } nach 2 St. krank, 1 „ } + 15./8.
	10 „	do.	6./7. 3 ccm, + 10./7. 1 „ + 10./7.
	19 „	do.	18./7. 3 ccm, + 19./7. 2 „ + 19./7.
	19 „	2,4 ccm Bouillon ¹⁾	4./12. 3 ccm, + 15./12. 2 „ lebt
Saigon K	10 Tage	2,4 ccm	26./1. 3 ccm, + 27./1.
	34 „	(Reichel-Filter)	16./2. 3 ccm, + 17./2. 1 „ + 17./2.
	10 Tage		14./8. 3 ccm } nach 2 St. krank, 1 „ } + 15./8.
	17 „	3,0 ccm Bouillon ¹⁾	8./10. 3 ccm, + 9./10. 1 „ + 9./10.
	19 „	2,4 ccm	4./12. 3 ccm, + 5./12. 2 „ lebt
Saigon G	10 Tage	2,4 ccm (Reichel-Filter)	25./10. 2 ccm, + 26./10. 1 „ + 26./10.
	10 „	(Reichel-Filter)	25./10. 2 ccm, + 26./10. 1 „ + 26./10.
	15 „	(Reichel-Filter)	30./10. 2 ccm, + 31./10. 1 „ + 31./10.
	17 „		8./10. 3 ccm, + 9./10. 1 „ + 9./10.
	34 „	(Reichel-Filter)	16./2. 3 ccm, + 17. 2. 1 „ + 17./2.

Temperaturabfall) zu Grunde. Bleiben die Tiere länger als 24 Stunden am Leben, so beobachtet man häufig Rektalprolapse, was auch schon Ransom beschreibt. Bei der Obduktion der akut zu Grunde gegangenen Tiere findet man im Peritoneum eine klare Flüssigkeit, die Darmschlingen

1) Die Bedeutung dieser Bezeichnungen ist aus Tabelle V zu entnehmen.

VII. der Gifte.

2. Prüfung	3. Prüfung	4. Prüfung	5. Prüfung
<p>nach 8 Tagen 14./8. 2 ccm, lebt</p> <p>nach 2 Tagen 18./2. 1 ccm, lebt</p> <p>nach 43 Tagen 26./9. 2 ccm, † 27./9. 1 „ † 27./9.</p> <p>nach 5 Tagen 11./7. 2 ccm, † 12./7. 1 „ lebt</p> <p>nach 3 Tagen 21./7. 2 ccm, krank 22./7. erholt sich 1 ccm, lebt</p> <p>nach 1 Tage 5./12. 3 ccm, † 6./12. 2 „ lebt</p>	<p>nach 75 Tagen 10./12. 3 ccm, lebt</p> <p>nach 6 Tagen 12./7. 3 ccm, † 13./7. 2 „ † 13./7. 1 „ lebt</p> <p>nach 5 Tagen 23./7. 3 ccm, † 24./7. 2 „ lebt</p> <p>nach 2 Tagen 6./12. 3 ccm, lebt 2 „ „</p>		
<p>nach 2 Tagen 28./1. 3 ccm, lebt</p> <p>nach 2 Tagen 18./2. 1 ccm, lebt</p>			
<p>nach 12 Tagen 26./8. 2 ccm, † 27./8. 1 „ † 27./8.</p> <p>nach 4 Tagen 12./10. 3 ccm, † 13./10. 1 „ lebt</p> <p>nach 2 Tagen 6./12. 3 ccm, † n. 6 St. 2 „ lebt</p>	<p>nach 106 Tagen 10./12. 3 ccm, † 11./12. 2 „ lebt</p> <p>nach 8 Tagen 16./10. 3 ccm, † 17./10. 2 „ † 17./10.</p> <p>nach 6 Tagen 10./12. 3 ccm, lebt 2 „ „</p>	<p>nach 29 Tagen 6./11. 3 ccm, † 7./11. 2 „ lebt</p>	<p>nach 31 Tagen 8./11. 3 ccm, lebt 2 „ „</p>
<p>nach 12 Tagen 6./11. 2 ccm, lebt</p> <p>nach 15 Tagen 9./11. 3 ccm, lebt 2 „ „</p> <p>nach 10 Tagen 9./11. 3 ccm, lebt 2 „ „</p> <p>nach 8 Tagen 16./10. 3 ccm, † 17./10. 2 „ † 17./10.</p> <p>nach 2 Tagen 18./2. 1 ccm, lebt</p>	<p>nach 15 Tagen 9./11. 3 ccm, lebt</p> <p>nach 29 Tagen 6./11. 3 ccm, † 8./11. 2 „ † 7./11.</p>	<p>nach 31 Tagen 8./11. 3 ccm, lebt 2 „ „</p>	

sind gerötet, ebenso die Nebennieren. Die Tiere mit Prolaps verenden häufig an Verblutung (die Tiere beißen den prolabierten Darm ab).

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren).

Von Dipl.-Ing. Dr. **Adolf Reitz**, Stuttgart.

Die Beobachtung, daß fluoreszierende Stoffe im Licht Protozoen in einer Verdünnung abtöten, in der im Dunkeln keine Einwirkung beobachtet werden kann, hat zuerst Raab (1) im Jahre 1898 gemacht. Raab machte unter Leitung von v. Tappeiner Versuche über die Einwirkung von Akridinlösungen auf Protozoen. Da die Versuche, mit denselben Verdünnungen, an derselben Protozoenart, jedoch an verschiedenen Tagen ausgeführt, gänzlich voneinander abweichende Resultate ergaben, so wurden die Versuche auch nach der Richtung hin erweitert, wie weit die Belichtungsverhältnisse an dem verschiedenen Ausfall der Versuche Anteil hätten. Diese Versuche ergaben nun das überraschende Resultat, daß Paramäcien in einer Akridinlösung von 1:20000 im Sonnenlicht in 6 Minuten, im zerstreuten Tageslicht in ca. 60 Minuten starben, im Dunkel jedoch noch nach 60000 Minuten am Leben waren.

Bevor man als Ursache eine besondere Lichtwirkung annehmen konnte, mußte die Wärmewirkung der strahlenden Energie ausgeschaltet werden. Jedoch auch bei Ausschaltung dieser war die Wirkung dieselbe. Es handelte sich also um eine neue Lichtwirkung, die v. Tappeiner (2) mit dem Namen *Photodynamie* belegte.

Es lag der Gedanke nahe, die besondere Lichtwirkung des Akridins mit einer Eigenschaft des Akridins in Zusammenhang zu bringen, die sehr auffallend ist, seiner Fluoreszenz.

Fluoreszierende Stoffe sind solche, die unter dem Einfluß des Lichts selbstleuchtend werden; die absorbierten Lichtstrahlen werden in solche von anderer Wellenlänge umgewandelt, eine Erscheinung, die von Stokes (3) zum erstenmals an Flußspat (Fluorcalcium) beobachtet wurde und nach diesem Mineral den Namen führt.

Versuche mit anderen Stoffen, welche die Eigenschaft der Fluoreszenz mit dem Akridin teilen (Phosphin, Eosin, Chinolinrot, Harmalin, Chinin) einerseits, und Versuche mit nicht fluoreszierenden Stoffen andererseits ergaben, daß nur die fluoreszierenden Stoffe „photodynamisch“ wirkten.

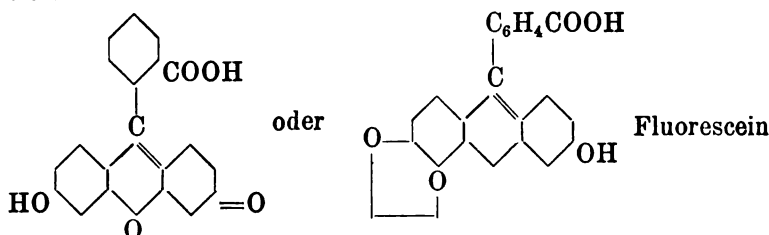
Ueber die Stoffe, die v. Tappeiner und Jodlbauer (4) zu ihren Versuchen mit *Paramaecium caudatum* heranzogen, sei folgendes erwähnt. (Vordem ist zu bemerken, daß diese Forscher zu ihren Versuchen in der Regel als Lichtquelle zerstreutes Tageslicht nahmen. Die Paramäcien gegen die Wärmewirkung der strahlenden Energie zu schützen, war in diesen Fällen nur an hellen Tagen des Frühjahrs und des Sommers nötig.)

1. Substanzen mit selektiver Absorption im sichtbaren Teil des Spektrums (Farbstoffe).

a) Gruppe des Fluoresceins.

Untersucht wurden Fluorescein, Dichlorfluorescein, Dibromfluorescein, Dijodfluorescein, Tetrachlorfluorescein, Tetrabromfluorescein, Tetrajodfluorescein, Dichlortetrabromfluorescein, Dichlortetrajodfluorescein, Tetrachlortetrajodfluorescein, Tetrabromfluoresceinäthyläther, Dichlortetra-

bromfluoresceinäthylester, Tetraäthyl-Rhodamin, Tetraäthyl-Rhodamin-äthylester.

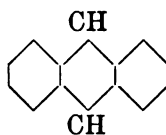


Sämtliche Fluoresceinsubstitutionsprodukte zeigten sehr starke photodynamische Wirkung. v. Tappeiner und Jodlbauer machten die wichtige Beobachtung, daß „in einer Gruppe chemisch verwandter fluoreszierender Stoffe in der Regel die photodynamische Wirkung um so größer ist, je geringer die Fluoreszenzhelligkeit ist“ (vorausgesetzt, daß letztere Größe nicht unter ein gewisses Minimum sinkt).

Substanz	Fluoreszenzhelligkeit	Giftigkeit für Paramäcien im zerstreuten Tageslicht, jene im Dunkeln = 1 gesetzt	Schädigung des Invertin in Proz. Expositionszeit 3 Std.
Fluorescein	sehr stark	11	0
Tetrachlorfluorescein	stark	35	10
Tetrabromfluorescein	mäßig	60	57
Tetrajodfluorescein	sehr schwach	80	89
Dichlortetrabromfluorescein	nur mit Linse im Sonnenlicht bemerkbar	150	89
Dichlortetrajodfluorescein	do.	100	96
Tetrachlortetrajodfluorescein	„	170	89

Von der Regel, daß die photodynamische Wirkung um so größer ist, je geringer die Fluoreszenzhelligkeit ist, scheint der von Busck (5) untersuchte Körper Tetrachlortetrabromfluoresceinkalium abzuweichen. Dieser Stoff, dessen stark grüne Fluoreszenz noch in Verdünnungen von 1 : 200 000 000 beobachtet werden konnte, zeigte eine größere photodynamische Wirkung als das schwach fluoreszierende Tetrajodfluorescein.

b) Gruppe des Anthracens.



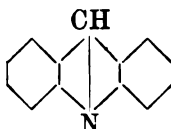
Anthracen.

Untersucht wurden Anthracen- α -monosulfosaures Kali, α -anthracendisulfosaures Natrium, β -anthracendisulfosaures Natrium, Dichloranthracendisulfosaures Natrium.

Die stärkste photodynamische Wirkung zeigte das dichloranthracendisulfosaure Natrium. (Uebrigens ein Stoff, der in gelblicher Lösung bei Verdünnung sehr lebhaft fluoresziert.) Es finden sich nämlich folgende Angaben:

Konzentration	Hell		Dunkel
	sofort tot	tot nach 10 Min.	alle lebend nach 48 Stunden do.
1:75			
1:200			
1:1000	" "	15 "	"
1:5000	" "	25 "	"
1:20 000	" "	45 "	"
1:40 000	" "	1 Std.	"
1:100 000	" "	1 1/2 "	"
1:200 000	" "	12 "	"
1:400 000	" "	16 "	"
1:1 000 000	" "	26 "	"
1:2 000 000	die Hälfte tot nach 26 Std.		"

c) Gruppe des Akridins.

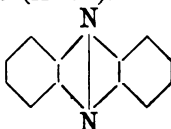


Akridin

Untersucht wurden salzsaures Akridin, salzsaures Chrysanilin, salzsaures Benzoflavin.

Alle Akridinderivate übten im Licht eine intensive Wirkung auf Paramäcien aus.

d) Gruppe des Phenazins (Azine).

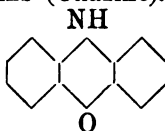


Phenazin

Untersucht wurden aus dieser Gruppe Phenazinchlorid, Diamidophenazinchlorid, Dimethyldiamidotoluphenazinchlorid, Phenosafraninchlorid, Tolsafranin, Rosindulinchlorid, phenylrosindulintrisulfosaures Natrium, Magdalarot (L. Durand, Huguenin & Co.), salzsaures Naphtylrot, Aposafranin, fluorindisulfosaures Natrium.

Außer dem fluorindisulfosauren Natrium zeigen alle untersuchten Phenazinderivate eine stark photodynamische Wirkung.

e) Gruppe des Phenoxazins (Oxazine).

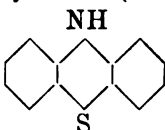


Phenoxazin

Untersucht wurden Nilblau A, Resorufin, fluoreszierendes Blau (Ammoniumsalz des Tetrabromresorufin).

Sehr starke Wirkung zeigte Nilblau A, stark wirksam, jedoch weniger stark als dieses, waren Resorufin und fluoreszierendes Blau.

f) Gruppe des Thiodiphenylamins (Thiazine).



Thiodiphenylamin

Untersucht wurden Methylenblau, Thionol, dehydrothiotoluidindisulfosaures Natrium.

Sehr starke Wirkung (in Konz. 1:200000 tot nach 30 Min.) zeigte Thionol. Die Wirkung der anderen Thiodiphenylaminderivate war ebenfalls eine starke.

g) Gruppe der Chinolinfarbstoffe (kondensierte Chinoline).

Untersucht wurden Chinolinrot, Chinolinblau (Cyanin). Letzteres wirkte sehr stark photodynamisch.

2. Substanzen mit Absorption im Violett bzw. Ultraviolett. Naphtalingruppe.

Untersucht wurden α -Naphtoltrisulfosäure (1.3.6.8), β -Naphtoltrisulfosäure (2.3.6.8), 2-5-Amidonaphtol-7-monosulfosäure, α -Naphtylamindisulfosäure S, β -Naphtylaminodisulfosäure C, Naphtionsäure, Naphtsultan-2-4-disulfosäure.

Die photodynamische Wirkung der Naphtalinderivate war schwach.

Außer diesen genannten Stoffen gelangten zur Prüfung Tetraamidostilbenchlorür, γ -Phenylchinaldinchlorid, Chininsulfat, Chininbisulfat, Hydrastininchlorid, Harmalinchlorid, Aeskulin.

Tetraamidostilbenchlorür war sehr giftig. Die Substanz zersetzt sich im Licht. γ -Phenylchinaldinchlorid wirkte sehr stark photodynamisch, die Chininsalze sehr schwach, Hydrastininchlorid sehr stark, Harmalinchlorid schwach, Aeskulin kaum merklich.

Versuche mit anderen Protozoen, *Amoeba proteus*, *Bodo saltans* zeigten analoge Verhältnisse wie bei *Paramaecium caudatum*.

Die Anthrachinone, über deren photodynamisches Verhalten v. Tappeiner (6) Versuche anstellte, zeigten dieselbe Eigenschaft, auf Paramäcien bei Licht intensiver einzuwirken, als im Dunkeln. Es wurden untersucht anthrachinon- α -monosulfosaures Kali, 2-7-anthrachinondisulfosaures Natrium, chrysophansaures Natrium. Sehr starke Wirkung wie die Dichloranthracendisulfosäure zeigte letztere Verbindung.

Nach diesen überraschenden Resultaten, die bei allen diesen Paramäcienversuchen erzielt wurden, war es wünschenswert, zu untersuchen, ob auch bei Bakterien, bei Fadenpilzen eine photodynamische Wirkung sich erzielen läßt.

Die ersten Versuche mit Bakterien machte wiederum Raab (7). Jedoch waren die Versuche nicht einwandfrei angeordnet, weshalb sie von v. Tappeiner und von Jodlbauer (8) wieder aufgenommen wurden. Zu den Versuchen wurden *Bac. prodigiosus*, *Proteus vulgaris* und *Bacterium acidilactici* benutzt. Als photodynamische Substanzen fanden bei den Versuchen mit *Bac. prodigiosus* Eosin (0,1–0,2-proz.), Erythrosin (0,05–0,1-proz.), Methylenblau (0,0005 bis 0,001-proz.), zu den Versuchen mit *Proteus vulgaris* Eosin 0,1-proz., Erythrosin (0,05–0,1-proz.), Rose bengale (Tetrachlortetrajodfluorescein-Natrium) 0,05-proz., Phenosafraninchlorid 0,001-proz., Methylenblau (0,001–0,005-proz.), dichloranthracendisulfosaures Natrium (0,05–0,1-proz.), zu den Versuchen mit *Bacterium acidilactici* Eosin (0,05–0,1-proz.), Erythrosin (0,05–0,1-proz.), Methylenblau (0,001 bis 0,005-proz.), dichloranthracendisulfosaures Natrium (0,05–0,1-proz.) Verwendung.

Die Versuche wurden so angestellt, daß eine Anzahl sehr dünnwandiger Reagenzcyylinder von 14 mm Durchmesser mit je 5 ccm physio-

logischer Kochsalzlösung paarweise mit 0,1 ccm einer Lösung von fluoreszierender Substanz bekannter Konzentration versetzt wurden. Zur Kontrolle wurde einigen Röhren nur destilliertes Wasser zugesetzt. Nach der Sterilisation wurden in jedes Glas 0,5 ccm einer 24 Stunden alten Bouillonkultur gebracht. Die eine Hälfte der Cylinder wurde an einem offenen Fenster (Norden) 7 Tage lang bei den Versuchen mit *Bac. prodigiosus*, 10 Tage lang bei den Versuchen mit *Proteus vulgaris* dem zerstreuten Tageslicht ausgesetzt. Die andere Hälfte der Gläser blieb im Dunkeln. Am Abend jeden Tages wurde aus jeder Röhre mittelst Platinöse in verflüssigte Gelatine übertragen, aus dieser eine Oese in eine zweite Gelatine und aus dieser zweiten zwei Oesen in eine dritte. Mit den Gelatineröhren wurden Petri-Schalen gegossen und letztere im Dunkel bei Zimmertemperatur aufbewahrt. Nach 3 Tagen wurde das eingetretene Wachstum festgestellt. Bei den Versuchen mit *Bacterium acidilactici* verfuhr der Verfasser so, daß sie am Ende jedes Expositionstages in sterilisierte Gärungssaccharometer das Material übertrugen. Die Saccharometer waren mit 2-proz. Traubenzuckerbouillon gefüllt und wurden nach der Impfung in den Brutschrank bei 37° gestellt.

Die Resultate waren überraschend: Vollständige Tötung trat bei *Bacillus prodigiosus* erst nach 5—7 Tagen Expositionszeit bei den Versuchen mit Eosin (0,1—0,2-proz.) und Erythrosin (0,05—0,1-proz.) ein, nach 2-tägiger Expositionszeit bei Erythrosin (0,2-proz.), nach 3-tägiger Exposition bei Methylenblau (0,0005-proz.), nach 2-tägiger Exposition bei Methylenblau (0,001-proz.). Bei den Untersuchungen mit *Proteus vulgaris* ergab sich unvollständige Tötung bei Eosin (0,1-proz.) nach 10 Tagen Exposition, vollständige Tötung bei Erythrosin (0,05—0,1-proz.) nach 2—3 Tagen Exposition, bei Rose bengale (0,05-proz.) nach 1—2 Tagen Exposition, bei Phenosafraninchlorid (0,001-proz.) nach 1 Tag, bei Methylenblau (0,001—0,005-proz.) nach 1—2 Tagen, und die bei Paramäcien so außerordentlich wirksame Dichloranthracendisulfosäure (0,05—0,1-proz.) blieb ohne jede bemerkbare Wirkung. Bei den Versuchen mit *Bacterium acidilactici* ergab sich folgendes:

	1 Tag		2 Tage		3 Tage		4 Tage	
	Hell	Dunkel	Hell	Dunkel	Hell	Dunkel	Hell	Dunkel
Ohne Zusatz	2,5	2,3	1,5	1,4	1,3	1,4	1,0	1,0
Eosin 0,05-proz.	—	—	—	—	1,3	1,1	0,6	0,7
Eosin 0,1-proz.	—	—	—	—	1,2	1,0	0,6	1,6
Erythrosin 0,05-proz.	—	—	—	—	0,8	0,8	0	0,8
Erythrosin 0,1-proz.	2,7	2,9	1,0	2,0	0	1,8	0	1,2
Methylenblau 0,001-proz.	0,4	2,9	0	2,2	0	0,8	0	1,0
Methylenblau 0,005-proz.	0	2,7	0	1,0	0	0,5	0	0,5
Dichloranthracendisulfosaures Natrium 0,05-proz.	2,7	2,5	2,0	2,0	0,8	1,0	1,0	1,2
Dichloranthracendisulfosaures Natrium 0,1-proz.	2,7	2,5	2,7	2,5	1,4	1,3	1,0	1,3

Die Schädigung im Dunkeln, die sich aus den oben angegebenen Zahlen ergibt, läßt sich auf die ungünstigen Ernährungsbedingungen zurückführen. Eosin (0,05-proz.) zeigte sogar nach 8-tägiger Exposition keine bemerkbare Einwirkung, ebenso blieb Dichloranthracendisulfosäure ohne jede Wirkung.

Diese Versuche zeigen, daß alle die verwendeten photodynamischen Stoffe in ihrer Wirkung auf Bakterien weit hinter der auf Paramäcien zurückstehen. Für die ungleiche Wirkung der einzelnen Stoffe (Dichloranthracendisulfosaure!) glauben v. Tappeiner und Jodlbauer in der Angabe von Nakanishi (9) eine Stütze zu finden, der fand, daß sich von zahlreichen untersuchten Farbstoffen das Methylenblau zur Lebendfärbung am geeignetsten erwies, daß die derbe Membran der Bakterien für die fluoreszierenden Stoffe in ungleichem Grade durchlässig ist.

Weitere Versuche über die Einwirkung photodynamischer Stoffe auf Bakterien wurden von Mettler (10) gemacht. Mettler arbeitete mit Eosin, Erythrosin und Fluorescein. Als Bakterien dienten ihm Choleravibrio, Staphylococcus pyogenes aureus, Typhusbacillus, Bact. coli commune und Bact. phosphorescens. Mettler fand ebenfalls wie v. Tappeiner, daß die entwicklungshemmende Wirkung auf Agar- und Gelatineplatten, die mit den von ihm untersuchten Bakterienarten infiziert worden waren, erhöht wird, wenn dem Nährboden geringe Mengen fluoreszierender Stoffe beigemischt worden waren. Neben Sonnenlicht und diffusum Tageslicht konnte auch mit elektrischem Bogenlicht die entwicklungshemmende Wirkung, wenn auch in geringerem Grade, nachgewiesen werden, währenddem das Gasglühlicht auf die Lebensfähigkeit auch nach mehrtägiger Exposition eine deutliche Wirkung nicht ausübte. Wurde das Tageslicht durch eine verdünnte Lösung eines photodynamischen Stoffes filtriert, so konnte eine Erhöhung des schädigenden Einflusses nicht konstatiert werden.

Huber (11) prüfte die Wirkung des Tageslichts auf die Lebensfähigkeit und die Virulenz von Streptococcus pyogenes aureus und Bacillus diphtheriae bei Anwesenheit photodynamischer Stoffe. Auch er fand, daß die Wirkung des Sonnenlichts bzw. Tageslichts auf die Lebensfähigkeit und Virulenz erhöht wurde durch das Vorhandensein von Eosin und Erythrosin.

Essinger (12) führte einige Versuche an Fadenpilzen aus. Zu den Versuchen wurden Penicillium glaucum und Achorion Schoenleinii benützt. Die Untersuchungsmethode war folgende:

In dünnwandige Reagenzgläschen wurden je 10 ccm verdünnter Bierwürze gebracht (1 Teil Bierwürze, 5 Teile physiologischer Kochsalzlösung) und dann 7 Paare je mit einer Lösung eines verschiedenen fluoreszierenden Stoffes versehen. Die Lösungen waren in einer solchen Konzentration hergestellt, daß überall 0,2 ccm erforderlich waren, um in der Bierwürze die nachgenannten Verdünnungen zu erzielen:

Methylenblau	0,001-proz.
Phenosafranin	0,001 "
Eosin	0,05 "
Erythrosin	0,05 "
Rose bengale	0,05 "
Dichloranthracendisulfosaures Natrium	0,05 "
Akridinchlorid	0,002 "

Das Resultat war folgendes: In allen Lösungen war nach 2 Tagen Wachstum aufgetreten, gleichviel in hell und dunkel. Nach 8 Tagen zeigte sich, daß die Kolonien sich durchweg in der Tiefe befanden (Sauerstoffwirkung). Photodynamisch unwirksam waren Methylenblau und dichloranthracendisulfosaures Natrium, wenig wirksam waren Eosin und Akridin, eine größere Wirksamkeit war bei Erythrosin konstatiert worden. Abgetötet waren die Kulturen in Rose bengale und Phenosafranin. Am 10. Tage wurde Wachstum festgestellt bei Methylenblau, Dichloranthracen-

disulfosäure. Abtötung war erfolgt in Erythrosin, Phenosafranin und Rose bengale. Letzteres hatte auch in den im Dunkeln gehaltenen Röhrchen abtötend gewirkt, war also giftig. Die Versuche in zehnmal niedrigerer und in zehnmal höherer Konzentration hatten das Resultat, daß beidemale eine viel geringere bzw. gar keine Wirkung zu konstatieren war. Die Beobachtung, daß die photodynamische Wirkung da am größten war, wo Sauerstoff zugegen war, veranlaßte Essinger, Schüttelversuche vorzunehmen, wobei die exponierten Röhrchen während der Dauer des ganzen Versuchs mit Luft in Berührung kamen. Dichloranthracendisulfosäure erwies sich wiederum als wirkungslos, während bei Rose bengale und Phenosafranin eine stärkere photodynamische Wirkung, ebenso bei Eosin, Akridin und Methylenblau sich wahrnehmen ließ. *Achorion Schoenleinii* war gegenüber der photodynamischen Wirkung wesentlich empfindlicher. Die obengenannten Konzentrationen von Eosin, Erythrosin, Rose bengale, Phenosafraninchlorid, Methylenblau, Akridinchlorid hatten bereits nach 1-tägiger Expositionszeit abtötend gewirkt. Dichloranthracendisulfosäure war auch hier wirkungslos.

Es zeigte sich also bei diesen Fadenpilzen ein erheblicher Unterschied gegenüber der Wirkung auf Paramäcien. Die photodynamische Wirkung war wesentlich schwächer. Auch hier trat die merkwürdige Erscheinung zu Tage, daß die auf Paramäcien stark photodynamisch wirkende Dichloranthracendisulfosäure völlig wirkungslos war. v. Tappeiner und Jodlbauer (13) führen auch hier die Ursache auf die derbere Membran der Fadenpilze zurück, wodurch der Eintritt der wirksamen Substanz verhindert bzw. verzögert wird. Sie ziehen daraus den Schluß, daß die photodynamische Wirkung bzw. das Auftreten von Ionen (Elektronen), mit der die photodynamische Erscheinung wahrscheinlich in Verbindung steht, nur im unmittelbaren Bereich der Moleküle der fluoreszierenden Substanz stattfindet.

Die Untersuchungen wurden von v. Tappeiner und Jodlbauer (14) auch auf Enzyme ausgedehnt. Auf Invertin photodynamisch wirksam erwiesen sich die Fluoresceinderivate (ausgenommen Fluorescein selber und seine Chloride), die Gruppe des Anthracens, die Gruppe des Thiazins, und die Chinolinfarbstoffe. Unwirksam waren die Phenazinderivate (außer Phenazin und Phenosafranin), Phenoxazine, Naphtalingruppe, Phenylchinaldin, Chinin, Harmalin, Hydrastinin, Aeskulin.

Bei diesen Versuchen zeigte sich, daß die Einwirkung der photodynamischen Stoffe auf das in Wasser aufgeschwemmte „ruhende“ Enzym wesentlich intensiver war, als bei dem mit Zuckerlösung versetzten tätigen. Die photodynamischen Wirkungen zeigten sich schon bei Zusatz ganz geringer Mengen (bei Eosin und Erythrosin noch in millionenfacher Verdünnung). Das Invertin, auf das die photodynamischen Stoffe einwirkten, ist dauernd geschädigt.

Die Einwirkung der photodynamischen Stoffe auf Invertin im Dunkeln war verschieden. Keine Einwirkung zeigte die Fluoresceingruppe, hemmend wirkten salzsaures Dimethylphosphin, Phenosafranin, Aposafarin, Safranin T, befördernd z. B. salzsaures Akridin, Dichloranthracendisulfosäure.

Huber machte Untersuchungen mit dem Labferment und fand, daß dasselbe nach mehrstündiger Exposition am Tageslicht nur wenig von seiner milchgerinnenden Eigenschaft einbüßt, bei Zusatz von Eosin und Erythrosin dagegen nach kurzer Belichtung eine deutliche Verlangsamung

der Gerinnung eintritt. Die schädigende Wirkung war viel stärker bei Luftzutritt als bei Luftabschluß.

Von weiteren Fermenten wurden nach dieser Richtung untersucht Diastase, Papayotin, Zymase. Die Untersuchungen wurden von Stark und Liebel (15), Tillmetz (16), Rehm (17), Riegner (18), Quiring (19), und Locher (20) ausgeführt.

Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Toxine wurden von v. Tappeiner und Jodlbauer (21) Versuche gemacht. Die Versuche wurden mit folgenden Substanzen ausgeführt: Fluorescein-Natrium (0,05-proz.), Eosin (0,05-proz.), Erythrosin (0,05-proz.), Dimethylphosphinchlorid (0,05-proz.), Chinolinrot (0,01-proz.), Harmalinchlorid (0,05-proz.), Aeskulin (0,05-proz.), Azobordeaux (0,05-proz.), Fuchsin (0,05-proz.), Azofuchsin (0,05-proz.).

Zu den Versuchen dienten Ricin, Crocin, Diphtherietoxin, Tetanustoxin, Tetanusantitoxin. Die Resultate waren folgende:

In den Dunkelflaschen und in den Lichtflaschen ohne Zusatz war nach 6 Tagen noch keine merkbare Abnahme des Agglutinationsvermögens des Ricins zu konstatieren. In den Lichtflaschen mit fluoreszierenden Zusätzen war eine Abnahme des Agglutinationsvermögens bereits nach dem 1. Tage zu beobachten. Nach 6 Tagen war es vollständig aufgehoben. Nur bei Aeskulin blieb es vollständig erhalten, ebenso bei den Nichtfluoreszenten Azobordeaux, Azofuchsin und Fuchsin. Die Allgemeinwirkung des Ricins wurde durch Fluorescein, Eosin, Harmalin und Chinolinrot in zerstreutem Tageslicht soweit aufgehoben, daß die 5—10-fache letale Dosis von den Tieren ertragen wurde. Die hämolytische Wirkung des Crocins wurde durch Fluorescein, Eosin, Rose bengale bei längerer Exposition aufgehoben. Keine Einwirkung zeigte Akridinchlorid. Diphtherietoxin wurde von Eosin und dichloranthracendisulfosaurem Natrium durch 3-tägige Exposition in zerstreutem Tageslicht mäßiger Intensität so geschädigt, daß Meerschweinchen nach Injektion der 120-fachen letalen Dosis gesund blieben. Schwächer wirkten Fluorescein und Methylenblau. Tetanustoxin wurde durch 3-tägige Exposition mit Eosin in zerstreutem Tageslicht mäßiger Intensität so geschädigt, daß Mäuse nach subkutaner Injektion der 1—10-fachen letalen Dosis am Leben blieben. Auf Tetanusantitoxin wirkte Eosin im Licht schädigend ein. Nach 3 Tagen Exposition in zerstreutem Tageslicht von mäßiger Intensität vermochte der Zusatz des 33-fachen Aequivalents den Tod durch Tetanustoxin nicht hintanzuhalten. Erst nach dem Zusatz des 67-fachen Aequivalents blieb das Leben erhalten. Diese Resultate wurden durch die Versuche Hubers (22) bestätigt, der weiterhin fand, daß die hämolytischen bzw. antihämolytischen Eigenschaften des Tetanustoxins und Antitoxins durch Exposition im Licht ähnlich beeinflußt werden, wie die rein toxischen bzw. antitoxischen Eigenschaften. Durch Zusatz photodynamischer Stoffe wurde auch hier die Wirksamkeit bedeutend abgeschwächt.

Jacobson (23) machte auf Veranlassung von v. Tappeiner Untersuchungen über die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Flimmerepithel aus der Rachenschleimhaut des Frosches. Als photodynamische Stoffe wendete er Eosin, Harmalin, Chinolinrot, Aeskulin an, von Nichtfluoreszenten Säurefuchsin. Jacobson fand, daß das Licht die Giftwirkung fluoreszierender Stoffe auf Flimmerepithel steigert, daß nichtfluoreszierende giftige Stoffe keine gesteigerte Wirkung im Licht haben, daß nicht giftige,

fluoreszierende Körper im Licht ebenso auf die Flimmerbewegung wirken wie im Dunkeln.

Die Wirkung photodynamischer Substanzen auf weiße Blutkörperchen war nach Salvendi (24) folgende: Die Leukocyten des Frosches wie auch die Leukocyten und Lymphocyten der Warmblüter erleiden durch die photodynamischen Substanzen im Licht eine Schädigung. Dieselbe tritt bei den weißen Blutkörperchen analog wie beim Flimmerepithel viel langsamer ein als bei Paramäcien. Bei Lymphocyten ist die Wirkung eine viel weitgehendere als bei den Leukocyten.

Sacharoff und Sachs (25), sowie Pfeiffer (26) fanden, daß rote Blutkörperchen durch Eosin-Lichtwirkung destruiert werden.

Eine sehr interessante Arbeit auf dem Gebiete der photodynamischen Erscheinungen ist die von G. Busck (27) über die Eiweißverbindungen photobiologischer Sensibilisatoren (photodynamischer Stoffe). Die Resultate seiner zahlreichen Untersuchungen sind:

Rote Blutkörperchen werden zerstört, wenn man sie mit intensivem Licht belichtet, das reich an kurzwelligen Strahlen ist. Der für Paramäcien giftige Stoff (Alexin), der in gewöhnlichem Blutserum enthalten ist, wird vernichtet, wenn er der Einwirkung ultravioletten Lichts ausgesetzt wird. Er läßt sich außerdem gegenüber mehr langwelligen Strahlen sensibilisieren. Ein Zusatz verschiedener photodynamischer Substanzen (Fluoresceinderivate, dichloranthracendisulfosaures Natrium u. s. w.) zum Blut warmblütiger Tiere zieht folgende Veränderungen der Eigenschaften des Blutes und der betreffenden photodynamischen Stoffe nach sich: Die Koagulationsfähigkeit des Blutes wird aufgehoben bzw. herabgesetzt, gleichviel, ob die Hinzusetzung in corpore oder in vitro geschieht. Die Alexinwirkung des Serums gegenüber Paramäcien wird aufgehoben bzw. herabgesetzt, selbst wenn die Präparate gegen die Einwirkung des Lichts geschützt werden. Die Toxizität der sensibilisierenden Stoffe wird aufgehoben bzw. herabgesetzt. Die spezifische Wirkung der sensibilisierenden Stoffe wird sowohl gegenüber Mikroorganismen und tierischen Gewebezellen, wie auch gegenüber Fermenten, Toxinen und Alexinen aufgehoben bzw. herabgesetzt. In Versuchen mit cellulären Reagentien tritt die Herabsetzung bedeutend kräftiger hervor als in Versuchen mit Lösungen nicht organisierter Stoffe. Die physikalischen und chemischen Eigenschaften der Sensibilisatoren werden verändert. Seren verschiedener Tiere besitzen eine ungleich starke Wirkung. Die Wirkung ist am stärksten, je geringer die Alkaleszenz des betreffenden Serums ist, und durch künstliche Veränderung derselben — in vivo oder in vitro — ist man imstande, die Versuchsergebnisse in der angegebenen Richtung zu beeinflussen. Die Veränderungen der Eigentümlichkeiten der sensibilisierenden Stoffe sind nicht auf kolloide Eigenschaften des Serums als solche und auch nicht auf dessen amphotere Reaktion zurückzuführen; denn sie lassen sich nicht durch Zusatz von Leim, Gummi arabicum, Stärke, Pepton, oder Theobromin und Glykokoll hervorrufen. Hühnereiweiß verhält sich dagegen ähnlich wie Serum, wenn auch dessen Wirkungen bedeutend ausgeprägter sind. Die Ursache dieser Veränderungen ist darin zu suchen, daß die betreffenden Sensibilisatoren mit den Eiweißstoffen des Serums Verbindungen eingehen mit ganzen anderen Eigenschaften als denen der beiden Komponenten. Diese Verbindungen zwischen Serumalbumin und Farbsäuren zeichnen sich durch folgende Reaktion aus: Sie sind löslich in Serum sowohl bei alka-

lischer Reaktion wie bei neutraler und saurer Reaktion, sie sind außerdem außerordentlich schwer löslich in Wasser, jedoch löslich in Alkali und in dünner Salzsäure. Sie werden von starker HCl gespalten. Sie werden durch Entwässerung mit schwefelsaurem Ammoniak aus ihren alkalischen Lösungen gefällt. Durch Kochen werden sie nicht gefällt.

Die Ursache, daß sich eine wirksame phototherapeutische Behandlung blutparasitärer Krankheiten mit den photodynamischen Stoffen nicht durchführen läßt, hat seinen Grund nach den Untersuchungen von Busck (28) darin, daß ein Teil dieser Stoffe aus ihren wässrigen Lösungen durch Serumhinzusetzung gefällt wird. Andere werden im Organismus zu Leukoverbindungen reduziert, die keine photodynamischen (sensibilisierenden) Eigenschaften besitzen und schließlich gehen eine Reihe der am stärksten wirkenden Sensibilisatoren direkte Verbindungen mit den Eiweißstoffen des Serums ein. Die sensibilisierende Fähigkeit wird hierdurch so stark herabgesetzt, daß man die Farbstoffe zur Erzielung des gewünschten Resultats im Ueberschuß injizieren muß, wodurch man Dosen erhält, die sich den toxischen nähern. Hierzu kommt, daß die intravenöse Injektion dieser Farbstoffe keine reelle Gewebefärbung zur Folge hat, da die Stoffe nur äußerst langsam in die normalen Gewebezellen hineindiffundieren, während sie anderseits schnell, teils mit den Faeces, teils durch die Nieren ausgeschieden werden. Die Diffusionsgeschwindigkeit variiert mit der Alkaleszenz des Blutes. Nicht nur bei Untersuchungen über Totalsensibilisierung, sondern auch z. B. bei chromotherapeutischen Versuchen (die Anwendung von „Blutdesinfizientia“) muß man mit den oben erwähnten Eiweißverbindungen der Anilinfarbstoffe und deren relativen Nichtgiftigkeit gegenüber Mikroorganismen rechnen. Die günstigen Resultate der Chromotherapie sind wahrscheinlich einer die Phagocytose begünstigenden, entwicklungshemmenden Einwirkung des betreffenden Farbstoffes auf die Mikroorganismen zuzuschreiben.

Phototherapeutische Versuche, die von Dreyer (29), v. Tappeiner (30), Jesionek (31), Busck (32), Neisser (33), Halberstädter (34), Raab (35) ausgeführt wurden, hatten aus den obigen von Busck und v. Tappeiner experimentell festgestellten Gründen negative Resultate.

Was die Bedingungen betrifft, unter denen die photodynamische Erscheinung beobachtet werden kann, so ist darüber folgendes zu sagen:

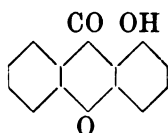
Eine Dunkelwirkung der fluoreszierenden Stoffe, welche mit der photodynamischen Erscheinung Beziehung hat, ist nach den Versuchen Jodlbauers (36) mit Jodkalium, mit Diastase und Ricin nicht nachzuweisen.

Ueber den Ablauf der photodynamischen Erscheinung bei alkalischer, neutraler und saurer Reaktion machte R. Dax (37) Untersuchungen und kommt zu dem Ergebnis, daß die photodynamische Erscheinung im wesentlichen unabhängig von der Reaktion verläuft. Ihre Intensität war insbesondere in alkalischer Flüssigkeit nicht größer als in neutraler oder saurer, wie es zu erwarten wäre, wenn zwischen ihr und der unter Säurebildung einhergehenden Zersetzung der angewandten fluoreszierenden Stoffe im Lichte ein ursächlicher Zusammenhang bestände. Die Versuche über die Beziehung der photodynamischen Wirkung der Stoffe der Fluoresceinreihe zu ihrer Fluoreszenzhelligkeit und ihrer Lichtempfindlichkeit, die von v. Tappeiner (38) ausgeführt wurden, ergaben,

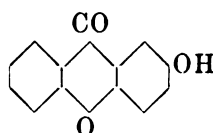
daß die photodynamische Wirkung der fluoreszierenden Stoffe in wässriger Lösung unabhängig ist von der Zersetzung im Licht, daß man also die photodynamische Erscheinung zu den katalytischen Vorgängen zählen und die fluoreszierenden Stoffe als Lichtkatalysatoren bezeichnen kann. Das Sensibilisierungsvermögen der Fluoresceine steigt von den Stoffen größter Fluoreszenzhelligkeit zu jenen geringster. Dieses Ansteigen ist jedoch kein gleichmäßiges und geht mit dem Absinken der Fluoreszenzhelligkeit nicht parallel. Die Versuche über die Abhängigkeit der Wirkung der fluoreszierenden Stoffe von ihrer Konzentration, die Jodlbauer und v. Tappeiner (39) ausführten, ergaben für alle Fluoresceine das Gemeinsame, daß die Wirkung mit abnehmender Konzentration zunächst zu einem Maximum, das zwischen Konzentration 1:1000 normal und 1:10000 normal liegt, ansteigt und dann abfällt. Die Lage des Maximums bei Fluorescein ist nahe bei Konzentration 1:2000 normal. Methylenblau verhält sich dem Fluorescein analog, indem seine Wirkung mit steigender Konzentration durch ein Maximum geht, das in der Nähe 1:2000 molekular liegt. Die Wirkung der Dichloranthracendisulfosäure nimmt mit steigender Konzentration zunächst langsam, dann rascher fortwährend zu, so daß das Maximum der Wirkung mit dem Maximum der Konzentration zusammenfällt.

Zur Erklärung der photodynamischen Erscheinung wurden vielerlei Betrachtungen angestellt:

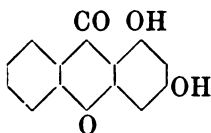
v. Tappeiner und Jodlbauer (40) kommen zu folgenden Sätzen: Die Wirkung beruht auf Absorption bestimmter Strahlen, denn sie bleibt aus, wenn die Strahlen, welche die photodynamische Substanz absorbiert, vorher abfiltriert werden, kommt hiergegen in nahezu unverminderter Stärke zum Ausdruck, wenn die Strahlen zugelassen, alle anderen abgehalten werden. Die Erscheinung ist jedoch kein einfacher Absorptionsvorgang. Zahlreiche Farbstoffe, welche sich durch Absorption in verschiedenen Teilen des Spektrums auszeichnen, haben keine photodynamische Wirkung, weder auf Paramäcien noch auf Enzyme. Versuche mit dem Nitrososfarbstoff Naphtolgrün B, mit Pikrinsäure, mit den Azofarbstoffen Viktoriaviolett 4BS, Azorbordeaux (By), Azofuchsin S (By), Benzopurpurin 4B (By), Azoblau (By), Diamingrün G, mit dem Diphenylmethanfarbstoff Auramin, mit den Triphenylmethanfarbstoffen Methylviolett (Gemenge von Penta- und Hexamethylparosanilin), Kristallviolett (salzsaures Hexamethylparosanilin), salzsaures Parosanilin (Parafuchsin), salzsaures Rosanilin (Fuchsin), Pararosolsäure (Aurin), Rosolsäure, Malachitgrün, mit indigodisulfosaurem Natrium, Hämatoxylin. Da die Erscheinung bisher ausnahmslos nur an Substanzen beobachtet wurde, die auch die Eigenschaft zu fluoreszieren besitzen und die Untersuchung sich über eine große Anzahl von fluoreszierenden und nichtfluoreszierenden Stoffen erstreckt, so ist die Wahrscheinlichkeit, daß die photodynamische Wirkung mit Fluoreszenz in Zusammenhang steht, eine große. Ist nun das ausgesandte Fluoreszenzlicht das Wirksame? Die Versuche ergaben, daß dies nicht der Fall ist. Ein weiterer Beleg ist der bereits erwähnte Umstand, daß in einer Gruppe chemisch verwandter fluoreszierender Stoffe in der Regel die photodynamische Wirkung um so größer, je geringer die Fluoreszenzhelligkeit ist. Neben der Fluoresceinreihe, die bereits nach dieser Richtung hin erwähnt worden ist, zeigt sich das in typischer Weise in der Xanthongruppe:



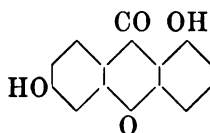
1-Oxyxanthon
Alkalische Lösung gelblich, keine
Fluoreszenz,
keine Photodynamie.



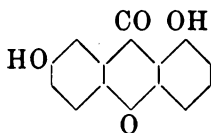
2-Oxyxanthon
Alkalische Lösung gelb, sehr
schwach grüne Fluoreszenz,
sehr deutliche Photodynamie.



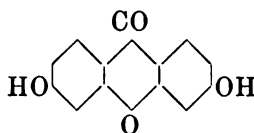
1-3-Dioxyxanthon
Alkalische Lösung gelblich, ohne
Fluoreszenz und ohne Photo-
dynamie.
Letale Konzentration 1 : 20000.



1-6-Dioxyxanthon
Alkalilösung gelblich, violette
Fluoreszenz, schwache Photo-
dynamie.
Letale Konzentration 1 : 80000.



1-7-Dioxyxanthon
Alkalilösung grünlichgelb, ohne
Fluoreszenz und ohne Photo-
dynamie.
Letale Konzentration 1 : 150000.



3-6-Dioxyxanthon
Alkalilösung schwach gelb, starke
violette Fluoreszenz.
Sehr deutliche Photodynamie,
indesschwächer als 2-Oxyxanthon.
Letale Konzentration 1 : 2000.

Bei ein und derselben Substanz nimmt die photodynamische Wirkung zu bzw. ab, im selben Sinne wie die Fluoreszenz. Die Annahme, daß ein Teil der absorbierten strahlenden Energie zu einer chemischen Zersetzung der photodynamischen Substanz führt und auf diese die Wirkung zurückzuführen ist, wird durch den Versuch widerlegt, daß Lösungen von Fluorescein, Eosin, Erythrosin, Akridin, Phosphin, Chinolinrot, Dichloranthracendisulfosäure u. s. w. längere Zeit dem Licht ausgesetzt und einige Zeit nachher erst im Dunkeln mit Paramäcien oder Enzymen zusammengebracht, sich nicht anders als im Dunkeln bereitete Lösungen verhalten.

Solange die analoge Einwirkung auf Toxine und Enzyme noch nicht bekannt war und nur mit Paramäcien Versuche gemacht worden waren, war die Erklärung möglich, daß ein Teil der absorbierten Energie zur Erhöhung der Giftigkeit der photodynamischen Substanz als solcher verwendet werde. Jedoch sprach auch gegen diese Erklärung der Befund, daß das schöne violettblau fluoreszierende Natriumsalz der Dichloranthracendisulfosäure im Dunkel ganz ungiftig ist, im Lichte sich aber als sehr stark photodynamisch erwies (eine Lösung von 1 : 1000000 tötete im Licht noch nach 24 Stunden). v. Tappeiner und Jodlbauer (41) kommen, nachdem sie photodynamische Erscheinung und Sensibilisation nicht für identisch erklärt haben, zu folgenden Schlußsätzen: Es ist offenbar eine ganz neue Wirkung, welche beim Zusatz des Eosins bzw. anderer analoger Stoffe zur Geltung kommt. Ist die photodynamische Substanz ungiftig, so tritt eine Schädigung der Organismen und Gewebszellen erst im Lichte auf; ist sie giftig, so addiert sich die photody-

namische Wirkung zur Giftwirkung. Der Vorschlag, die Stoffe mit einem Namen zu bezeichnen: photodynamische, d. h. im Licht bezw. bei Bestrahlung wirkend, ist daher durchaus gerechtfertigt. Er präjudiziert nichts und kann fallen gelassen werden, wenn der weitere Verlauf der Untersuchung die unzweifelhafte Berechtigung gibt, von Fluoreszenzwirkung bezw. Fluoreszenztherapie zu sprechen.

Sehr eingehende Untersuchungen wurden darüber angestellt, wie weit das Vorhandensein von Sauerstoff als ein unbedingter Faktor bei der photodynamischen Erscheinung angesehen werden muß. Bereits Raab (42) hat darüber Untersuchungen angestellt. Ledoux-Lebard (43) verdankt man in dieser Beziehung einige sehr interessante Versuche:

Er stellte sich eine Eosinlösung in der Verdünnung 1:1000 her. Einen Teil setzt er dem Tageslicht aus, der andere Teil wird im Dunkelmzimmer behalten. Nach einer Stunde bringt er die belichtete Lösung in das Dunkelmzimmer, setzt dieser, wie der unbelichteten Lösung, eine gleiche Anzahl Paramäcien zu und findet, daß in der belichteten Lösung die Tiere schneller zu Grunde gehen als in der unbelichteten. Weiterhin konstatierte er, „que les paramécies ajoutées, après l'éclairement, meurent d'autant plus vite que la lumière était plus intense“. Ledoux-Lebard macht auf einen Umstand aufmerksam, der nach v. Tappeiners (44) Meinung vielleicht der erste Ansatz zu einer Erklärung der photodynamischen Wirkung auf chemischem Wege enthält. Ledoux-Lebard fand, daß offenbar der Sauerstoff bei der interessanten Erscheinung eine wichtige Rolle spielt. „Le contact de la solution avec l'air pur une large surface favorise l'apparition du pouvoir toxique. Celui-ci est faible lorsque la solution est contenue dans un tube fermé, effilé et rempli de liquide jusque dans l'effilure. Le vide incomplet obtenu à l'aide de la trompe diminue également la production de substance toxique, sous l'influence de la lumière.“

Der Erklärung der photodynamischen Erscheinung durch die Autoxydationstheorie von Bach und Engler (45), die Straub (46) zu seinen Versuchen heranzieht, können v. Tappeiner und Jodlbauer (47) nicht beistimmen. Straub will einen experimentellen Beweis in dem Phänomen Ledoux-Lebards finden, was jedoch in sehr exakter Weise von v. Tappeiner und Jodlbauer widerlegt wird. Bei der Zersetzung des Eosins durch Bleichung bildet sich Säure, die auf die gegen Säuren äußerst empfindlichen Paramäcien einwirkt; denn neutralisiert man eine vorbelichtete Lösung von Eosin, Erythrosin oder dichloranthracendisulfosaurem Natrium genau, so verschwindet die Ledoux-Lebardsche Erscheinung vollständig. Da die Paramäcienkulturen in geringem Grade alkalisch wirken, so neutralisieren sie, je mehr von ihnen vorhanden sind, die gebildete Säure mehr oder weniger. Damit erklärt sich die von Ledoux-Lebard beobachtete Erscheinung, daß Paramäcien in vorbelichteter Eosinlösung um so länger am Leben bleiben, je mehr von ihrer Kultur der Lösung zugefügt wird. Der chemische Nachweis des Peroxyds mißlang bei den Versuchen von v. Tappeiner und Jodlbauer (48).

v. Tappeiner und Jodlbauer machten weitere Versuche über die Beteiligung des Sauerstoffes bei der photodynamischen Erscheinung und zwar mit einer fakultativ anaëroben Bakterienart, *Bacterium vulgare* (*Proteus vulgaris* Hauser). Sie fanden, daß das Wachstum der im Dunkel aufbewahrten Kultur, sowie der belichteten luftleeren Kultur nicht sistiert war, während die belichteten lufthaltigen Röhren

steril waren. Die Versuche mit Enzymen (Invertin, Diastase) und dem Toxin Ricin ergaben dasselbe. Fluoreszierende Stoffe vernichteten die Wirkungen von Enzymen und Toxinen nur bei Gegenwart von Sauerstoff, wenn auch die zur Schädigung nötigen Mengen von Sauerstoff nur geringe zu sein brauchen. Sauerstoff unter erhöhtem Druck und Atmosphärendruck verhielt sich in seinem Einfluß auf die Photodynamie gleich. Die Versuche, das aufgetretene Oxydationsprodukt bei Diastase (Kohlensäure) festzustellen, ergaben, daß die Bildung von Kohlensäure selbst bei Anwendung größerer Mengen des Enzyms äußerst gering und nicht mit Sicherheit bestimmbar ist.

Die Versuche mit sog. Ozonreagentien zum Nachweis aktiven Sauerstoffs ergaben Schwärzung von metallischem Silber durch Bildung von Silberoxyd, Bläuung von Guajakharz in Chlorhydratlösung, Bläuung der Tetrabase von Arnold und Mentzel (49), positiven Ausfall der Indophenolreaktion, Bläuung von Wursters Tetrapapier. Arsenige Säure wurde zu Arsensäure, Indigo zu Isatin, Benzylalkohol zu Benzoesäure, Salicylaldehyd zu Salicylsäure, Pyrogallol unter CO_2 -Entwicklung oxydiert. Edlefsen (50) fand, daß durch Resorufin, Eosin und Chinin im Licht schwefelsaures Eisenoxydul rasch zu Oxyd, und β -Naphthol zu β -Naphtochinon oxydiert werden, Vorgänge, die als Sensibilisierung aufgefaßt werden können. v. Tappeiner und Jodlbauer (51) fanden die Jodkaliumreaktion nur fluoreszierenden Stoffen eigen. Allen nicht fluoreszierenden Stoffen fehlt sie. Die Jodkaliumreaktion geht jedoch mit der photodynamischen Wirkung nicht parallel, da z. B. die photodynamisch unwirksame Fluorindisulfosäure und das ebenfalls photodynamisch unwirksame Aeskulin die Reaktion sehr intensiv geben, während die photodynamisch stark wirkenden Stoffe Phenosafranin, Azokarmin, γ -Phenylchinaldin, α -Naphtholtrisulfosäure, β -Naphthylamindisulfosäure, Naphthionsäure auf Jodkalium nur sehr schwach oder gar nicht wirken.

Das Ergebnis, daß die fluoreszierenden Stoffe bei Abwesenheit von Sauerstoff auf die Edersche (52) Mercuri-Oxalat-Reaktion befördernd einwirken, veranlaßt v. Tappeiner und Jodlbauer (53), anschließend an die Theorie Nernsts, zu erklären, daß Ionenbildung, die durch die absorbierte Lichtenergie hervorgerufen ist, den Wirkungen der fluoreszierenden Substanzen zu Grunde liegt.

Die Frage, ob die photodynamische Erscheinung mit der von H. W. Vogel (54) an Bromsilberplatten entdeckten optischen Sensibilisierung identisch ist, hat eine Reihe von Kontroversen hervorgerufen.

H. W. Vogel wies im Jahre 1873 nach, daß bei der Lichtempfindlichkeit der Silbersalze nicht allein ihre eigene Absorption, sondern auch die Absorption beigemengter Substanzen eine Rolle spielen kann. Diese Substanzen, durch deren Beimengung man die Platten gegenüber allen Strahlen des Spektrums empfindlich machen kann, nennt man Sensibilisatoren, den Vorgang optische Sensibilisierung.

Man fand, daß sehr viele optische Sensibilisatoren die Eigenschaft zu fluoreszieren haben, jedoch nicht alle. Die Erscheinung der Photodynamie wurde bis jetzt jedoch nur an fluoreszierenden Substanzen beobachtet. Aus diesem Grunde verneinten v. Tappeiner und Jodlbauer (55) die Identität der beiden Vorgänge. Faßt man, wie v. Tappeiner ausführt, jedoch die Sensibilisierung als eine Steigerung jedes Prozesses auf, der auch durch Licht allein bewirkt wird, so kann die Frage nur dann entschieden werden, wenn der Endeffekt bei der photodynamischen Erscheinung wie bei der bloßen Lichtwirkung unter denselben

Bedingungen erfolgt. v. Tappeiner und Jodlbauer (56) wiesen nach, daß Enzyme durch Licht nur bei Gegenwart von Sauerstoff merkbar geschädigt werden, also unter denselben Bedingungen wie bei Anwesenheit von fluoreszierenden Substanzen. Die photodynamischen Stoffe können in diesem Falle als Lichtkatalysatoren bezeichnet und der Vorgang kann als Sensibilisierung im weiteren Sinne des Wortes aufgefaßt werden.

Ob Sauerstoff auch bei der Abtötung von Bakterien durch Licht vorhanden sein muß, ist bis jetzt noch nicht entschieden. v. Bie (57) verneint es.

2. Eigene Versuche.

1. Versuche mit Fluorescein.

Bei diesen Versuchen war es mir in erster Linie darum zu tun, ein chemisch reines Präparat zu erlangen. Die käuflichen Fluoresceinpräparate sind zum großen Teil nicht rein, weshalb ich das Fluorescein selbst herstellte:

Zur Herstellung von rohem Fluorescein wurde folgender Weg eingeschlagen. 20 g zerkleinertes Phtalsäureanhydrid wurden mit 28 g zerkleinertem Resorcin gut miteinander vermenzt und in einem Kochkolben im Oelbad auf 180° erhitzt. Sobald die Masse geschmolzen war, wurden in kleinen Portionen 9 g pulverisiertes Chlorzink eingetragen. Nach dem Zusatz des Chlorzinks wurde die Temperatur so lange auf 210° gehalten, bis die ganze Masse fest geworden war. Durch Zerschlagen des Kolbens wurde die rötliche Schmelze entfernt und im Mörtel fein zerrieben. Die pulverisierte Masse wurde mit 250 ccm Wasser, dem 12 ccm konzentrierte Salzsäure zugegeben worden waren, 15 Minuten lang gekocht. Das Fluorescein wurde sodann mit Alkohol gewaschen.

Im Gesamten wurden auf diese Weise zu den weiteren Versuchen 300 g Fluorescein hergestellt. Zur Reinigung des Fluoresceins wurde dasselbe zunächst in Diacetylfluorescein auf folgende Weise umgewandelt:

20 g Fluorescein wurden mit 70 g fraktioniert destilliertem Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler 2 Stunden in gelindem Sieden gehalten. Nach dieser Zeit war vollständige Lösung eingetreten und eine Probe mit Alkohol versetzt, schied gelbe Kristalle ab, die in verdünntem Ammoniak unlöslich waren. Der Kolbeninhalt wurde sodann in eine Schale gegossen und allmählich mit 50 g Alkohol versetzt. Die Acetylverbindung schied sich in gelben Blättchen ab.

Zur Reinigung des Diacetylfluoresceins empfiehlt Baeyer (58) die Lösung in Eisessig, welche sodann mit einem mehrfachen Volumen Alkohol versetzt werden soll. Auf diese Weise konnte jedoch kein farblores Produkt erhalten werden.

Um einen anderen Weg zur Reinigung zu finden, wurden Löslichkeitsversuche angestellt, deren Ergebnis folgendes ist (verwendet wurde aber hierbei das noch gelb gefärbte Diacetylfluorescein, das weiße Diacetylfluorescein verhielt sich gegenüber den Lösungsmitteln anders):

Chloroform:	Leicht löslich auch in der Kälte
Aceton:	Leicht löslich beim Kochen
	Schwer löslich in der Kälte
Benzol:	Leicht löslich beim Kochen
	Leicht löslich in der Kälte
Petroläther:	Schwer löslich beim Kochen
	Schwer löslich in der Kälte

Essigester:	Leicht löslich beim Kochen
	Leicht löslich in der Kälte
Eisessig:	Leicht löslich beim Kochen
	Mäßig löslich in der Kälte

Weitere Reinigungsversuche wurden mit Benzol und Aceton gemacht. Da das Diacetylfluorescein immer noch schwach gelblich gefärbt war, so wurde mehrfach mit Tierkohle aufgekocht. Im ganzen wurde etwa 12mal umkristallisiert, bis ein annähernd farbloses Produkt erhalten wurde. Um die Reinheit des erhaltenen Diacetylfluoresceins zu prüfen, wurden einige Analysen ausgeführt, die folgendes Ergebnis hatten:

Nach der 10. Kristallisation:

	Gefunden	Berechnet
C	69,18 Proz.	69,23 Proz.
H	5,19 „	3,85 „

Nach der 12. Kristallisation:

	Gefunden	Berechnet
C	69,53 Proz.	69,23 Proz.
H	4,46 „	3,85 „

Eine Probe, die nur aus Benzol 8mal umkristallisiert worden war, ergab folgendes Analysenresultat:

	Gefunden	Berechnet
C	69,93 Proz.	69,23 Proz.
H	5,91 „	3,85 „

Bei der näheren Untersuchung namentlich gegenüber Alkalien zeigte sich, daß das Diacetylfluorescein teilweise verseift war. In Alkalien, in denen es nach Baeyer unlöslich sein soll, löste es sich in der Kälte teilweise mit Fluoreszenz auf. Auch der Gedanke lag nahe, daß nicht alles Fluorescein in die Diacetylverbindung übergegangen war. Es wurde deshalb ein bereits mit Essigsäureanhydrid behandelter Teil nochmals mit derselben Menge von Essigsäureanhydrid am Rückflußkühler behandelt.

Das Analysenresultat des so erhaltenen farblosen Materials war folgendes:

	Gefunden	Berechnet
C	70,12 Proz.	69,23 Proz.
H	4,73 „	3,85 „

Das Produkt war wiederum teilweise in Alkalien mit Fluoreszenz löslich, Schmelzpunkt 202°.

Da die Diacetylverbindung nur zwecks Reinerhaltung des Fluoresceins dargestellt worden war, so konnte eine teilweise Verseifung bei der weiteren Behandlung nicht hinderlich sein. (Eine unvollständige Acetylierung war ja nach 2maligem Behandeln mit Essigsäureanhydrid ausgeschlossen.)

(Fortsetzung folgt.)

Nachdruck verboten.

Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus.

[Aus dem kgl. Institut für Infektionskrankheiten.
Direktor: Geh. Ob.-Med.-Rat Dr. Gaffky.]

Von Stabsarzt Dr. **K. Kutscher**, kommandiert zum Institut.

Die Züchtung des Weichselbaumschen Genickstarreerreger auf künstlichen Nährböden bietet bekanntlich zuweilen nicht unerhebliche Schwierigkeiten. Ganz besonders ist dieses der Fall, wenn es sich um erste Generationen, d. h. die Isolierung aus dem menschlichen Körper handelt. Der *Meningococcus* wächst in der ersten Generation am besten auf Nährböden, welchen menschliches Eiweiß zugesetzt ist. In der Praxis kommt demnach für seine Züchtung aus dem menschlichen Körper in erster Linie der sogenannte Ascites- bzw. Pleuraexsudat-, Hydrocelen-Agar in Frage. Loeffler-Serum, Serumagar sowie Nutrose-serum geben, da sie kein menschliches Eiweiß enthalten, schon wesentlich ungünstigere Resultate. Auch der neuerdings von Flexner¹⁾ für die Züchtung des *Meningococcus* empfohlene Schafserumwasser-Traubenzuckeragar scheint, wenigstens für die Erstzüchtung, dem Ascitesagar an Brauchbarkeit nachzustehen.

Der Ascitesagar bietet zwei nicht zu unterschätzende Vorzüge den anderen genannten Nährböden gegenüber. Erstens gedeihen die Meningokokken recht üppig auf ihm, zweitens bilden sie auf ihm charakteristische, daher dem Geübten leicht erkennbare durchsichtige Kolonien, welche in ihrem Aussehen nahezu an Vibrionenkolonien erinnern. Hierdurch wird die bakteriologische Untersuchung, namentlich des Rachenschleimes, wesentlich erleichtert. Ein großer Nachteil des Ascitesagars für seine allgemeine Anwendung bei der Meningokokkendiagnose besteht aber andererseits darin, daß die zu seiner Herstellung erforderliche Ascitesflüssigkeit oft nur sehr schwer, zuweilen aber gar nicht erhältlich ist. Besonders fällt dieser Umstand erschwerend ins Gewicht bei Massenuntersuchungen, z. B. auf Keimträger, und für Laboratorien in kleineren Städten.

Das Bestreben mußte daher darauf gerichtet sein, für die Züchtung des *Meningococcus* in den ersten Generationen einen zuverlässigen Nährboden zu besitzen, welcher den Untersucher unabhängig von der Beschaffung von Ascitesflüssigkeit macht.

Ein solcher Nährboden ist von mir in letzter Zeit vielfach als Ersatz für Ascitesagar mit gutem Erfolg angewandt worden. Er enthält menschliche Placenta, welche in Städten mit Entbindungsanstalten ohne weiteres, aber selbst für kleinere Laboratorien stets ohne besondere Schwierigkeiten zu beschaffen sein dürfte. Die Benutzung der Placenta gestaltet sich noch dadurch wesentlich einfacher, daß für die Bereitung des erwähnten Nährbodens eine Aufbewahrung derselben unter besonderen Vorsichtsbedingungen (steril) nicht erforderlich ist.

Die Herstellung des Nährbodens geschieht in folgender Weise. Die möglichst frische Placenta wird in kleine Stücke zerschnitten und mit dem ausfließenden Gewebssaft etc. abgewogen. Unter Zusatz der doppelten Gewichtsmenge Wasser wird nun, wie aus Fleisch, in der üblichen

1) Journ. of experim. med. Vol. IX. No. 2.

Weise ein $2\frac{1}{2}$ -proz. Agar bereitet, dem $\frac{1}{2}$ Proz. NaCl, 1 Proz. Traubenzucker, 2 Proz. Nutrose und 2 Proz. Pepton Chapoteaut zugefügt werden. Der schwach alkalisch reagierende Agar wird in kleinen Kölbchen zu 100 ccm sterilisiert. Zu 3 Teilen dieses Agars wird, um den fertigen Nährboden zu erhalten, 1 Teil sterilen (in Kölbchen von 50 ccm 4 Tage hintereinander je 1 Stunde bei 60° gehaltenen) Rinderserums hinzugesetzt. Beide Hauptkomponenten des fertigen Nährbodens, Placentaagar und Rinderserum, können vorrätig gehalten werden. Zum Gebrauch wird der fertige Nährboden ebenso wie Ascitesagar jedesmal frisch hergestellt. Er ist klar, durchsichtig und reagiert leicht alkalisch.

Auf diesem Nährboden gedeihen die Meningokokken auch in den ersten Generationen bereits genau ebenso üppig als auf Ascitesagar. Sie bilden ebenfalls leicht erkennbare, kreisrunde, helle, durchsichtige, grau-blaue, irisierende Kolonien. Der Durchmesser derselben beträgt nach 18—20-stündigem Wachstum bei 37° etwa 2—3 mm. Sie unterscheiden sich in ihrem Aussehen bei makroskopischer Betrachtung von ebenso alten Kolonien auf Ascitesagar insofern etwas, als sie in der Regel etwas kompakter und saftiger gewachsen sind.

Bei Betrachtung mit schwacher mikroskopischer Vergrößerung erscheinen sie als mattgelbe homogene Scheiben mit glattem oder leicht gewelltem Rand. Die Kolonien lassen sich leicht vom Nährboden abstechen. Nach 48-stündiger Bebrütung bei 37° zeigen sie einen Durchmesser von 3—4 mm und ein erhabenes dunkleres Zentrum mit einem flacheren Rand. Ihr Verhalten entspricht also hier demjenigen gleichalteriger Kolonien auf Ascitesagar.

Bei meinen bisherigen Versuchen ergab die Züchtung von Meningokokken aus verdächtigem Material auf Placenta-Rinderserumagar stets mindestens ebenso gute Resultate wie die zur Kontrolle vorgenommene bakteriologische Untersuchung auf Ascitesagar. Es wurden von mir im ganzen auf beiden Nährböden 40 Lumbalfüssigkeiten und 37 Rachenschleimproben vergleichend untersucht. Von den Lumbalfüssigkeiten ergaben 5 auf beiden Nährböden gleichzeitig ein positives Resultat. Einmal zeigte sich nach 3 Tagen auf Placentaserumagar noch Wachstum, während auf Ascitesagar ein solches nicht erfolgte. Die Untersuchung der übrigen 34 Lumbalsekrete fiel auf beiden Nährböden gleichzeitig negativ aus. Von 37 Rachenschleimproben waren auf beiden Nährböden gleichzeitig 4 positiv. Nur auf Placentaserumagar ein positives Ergebnis hatten 2 Proben, nur auf Ascitesagar positiv fiel 1 Probe aus. Der letztere Fall ist indes eigentlich auszuschalten, da die Schleimprobe etwa 24 Stunden lang ungeschützt gegen Austrocknung und Licht im Laboratorium gestanden hatte, ehe der Ausstrich auf Placentaserumagar erfolgte, während letzteres auf Ascitesagar sogleich nach der Entnahme geschah.

Das Wachstum der Meningokokken auf dem Placentaserumagar war im übrigen unter gleichen Bedingungen der Aussaat in jedem Falle, was die Anzahl der Kolonien betrifft, ebenso reichlich als auf Ascitesagar. Die zuweilen gemachte Beobachtung, daß die Meningokokken auf Ascites verschiedener Herkunft verschieden üppig und reichlich wachsen, habe ich bei der Anwendung von Placentaserumagar nicht gemacht. Dieses mag daher rühren, daß der Nährstoffgehalt des Ascites als eines pathologischen Produktes des Körpers verschieden groß sein kann, während die Menge und Zusammensetzung der Nährstoffe in der Placenta solchen Schwankungen wohl kaum unterworfen ist. Welche Nährstoffe aus der

Placenta im Verein mit dem Eiweiß des Rinderserums den Meningokokken besonders günstige Wachstumsbedingungen schaffen, läßt sich bisher nicht mit Sicherheit sagen. Eiweißkörper selbst dürften hier nicht in Betracht kommen, da sie durch Kochen ausgefällt werden, vielleicht aber gewisse Salze und eiweißähnliche Substanzen. Wenn auch der Placentaserumagar ebenso wie der Ascitesagar insofern noch kein ganz idealer Nährboden ist, als er als Gesamtnährboden nicht gebrauchsfertig durch Kochen sterilisiert werden kann, so darf er doch für die bakteriologische Meningokokkendiagnose bei der Möglichkeit, ihn jederzeit leicht zu beschaffen, als vollwertiger Ersatz für Ascitesagar empfohlen werden.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Donath, Julius und Landsteiner, Karl, Weitere Beobachtungen über paroxysmale Hämoglobinurie, p. 205.

Kraus, R. und Russ, V. K., Ueber Toxine und Antitoxine des Cholera vibrio, p. 258.

Kutscher, K., Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus, p. 286.

Landsteiner, Karl und Ehrlich, Hans, Ueber bakterizide Wirkungen von Lipoiden und ihre Beziehung zur Komplementwirkung, p. 247.

Mrázek, Al., Sterilitätserscheinungen bei Cestoden, p. 234.

Pettersson, Alfred, Weitere Untersuchun-

gen über die Bedeutung der Leukocyten für die Immunität. (Schluß), p. 235.

Reitz, Adolf, Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren), p. 270.

Siegel, J., Experimentelle Studien über Syphilis. II., p. 218.

Ucke, A., Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm, p. 231.

Vourloud, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé. (Schluß), p. 193.

Woolley, Paul G., Subcutaneous fibrogranulomata in cattle, p. 214.

Nachdruck verboten.

Ueber die Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven einiger Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institute der Universität Helsingfors
(Vorstand: Prof. Dr. Taav. Laitinen).]

Von R. Stigell.

Mit 10 Figuren.

Da bei Bakterien verschiedene Bewegungsformen vorkommen können, muß man die direkte Eigenbewegung von allen anderen indirekten Bewegungserscheinungen, die durch positive resp. negative Chemotaxis, Diffusion, Kontraktion des Zellinhalts oder durch molekulare Bewegung bedingt sein können, unterscheiden.

Bei differentialdiagnostischen Untersuchungen wird nur konstatiert, ob eine Bakterienart beweglich oder unbeweglich ist. Im allgemeinen ist diese Eigenschaft — die zunächst bei Spirillen und Vibrionen, manchen Bacillen, einigen Kokken und Sarcinen vorkommt — sehr konstant und leicht zu observieren, obgleich es doch in einigen Fällen sehr schwer, nahezu unmöglich ist, diese Frage zu entscheiden. Die Frage von der Natur der Bewegung bei Tuberkelbacillen läßt Bendix noch offen. Fraenkel wieder erklärt diese — wie auch Taramchin die temporären Bewegungserscheinungen des Anthracis — für molekulare Bewegungen. Wenn man die Bewegungen der Bakterien näher beobachtet, bemerkt man, daß zur Fortbewegung noch verschiedene Veränderungen der Lage hinzukommen. Da diese Veränderungen der Lage zu Pendel-, Kreis-, Schrauben- oder Rotationsbewegungen werden können und da jede Bewegung entweder horizontal oder vertikal, sogar gleichzeitig sowohl horizontal als vertikal sein kann, ist es klar, daß die Darstellung von solchen Bewegungen äußerst schwer wird. Mehrere Forscher haben diese verschiedenen Bewegungen genau erklärt. Koch hat besonders die Bewegungen von *Bac. tremulus*, Migula von *Bac. megatherium*, Perty und Cohn von *Spirochaete plicatilis*¹⁾ erklärt.

In den meisten Erklärungen hat man auch die wenigen Vergleichungspunkte, vermittelt welcher es möglich wäre, wirkliche Zahlenwerte und sichere Darstellungen zu erhalten, von einer Beurteilung mit dem Auge und von der Phantasie abhängen lassen. Nur Gabritschewsky hat ein paar wirkliche Zahlenwerte dargestellt, indem er als Geschwindigkeit einer Bakterie 6 mm in der Stunde und des Cholera-bacillus 0,1—0,2 mm-sek.²⁾ ermittelte.

Da man in allen Erklärungen vor allem die Fortbewegungsgeschwindigkeit und die Form der von ihnen zurückgelegten Bahnen zu beurteilen versucht hat, interessierte es mich, über die Bewegungen einiger Bakterien folgende Beobachtungen zu machen.

Mit der Vergrößerung 1500 (Obj. 2 mm, Okul. comp. 4*) und mit dem Okularmikrometer machte ich über die Bewegungen jeder Bakterien-

1) Kolbe u. Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. I. p. 59.

2) Migula, W., System der Bakterien. Bd. I. p. 108—115.

art 10 Weg- und Zeitbestimmungen. Die Darstellung von nur einer oder von ein paar Bestimmungen würde ganz zufällig aussehen, denn die Werte von verschiedenen Individuen unterscheiden sich, wie man auch im Nachstehenden sieht, sehr stark. Für jede Bakterienart erhielt ich folgende Zahlen:

Bac. subtilis.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 14 μ	5,2 sek.	2,70 μ /sek.	6) 20 μ	3,6 sek.	5,55 μ /sek.
2) 59 "	10,8 "	5,45 "	7) 18 "	4,4 "	4,10 "
3) 48 "	9,2 "	5,2 "	8) 14 "	3,6 "	3,90 "
4) 29 "	8,8 "	3,3 "	9) 8 "	12,0 "	0,66 "
5) 11 "	7,6 "	1,45 "	10) 17 "	4,8 "	3,55 "

Proteus vulgaris.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 8 μ	4,0 sek.	2,0 μ /sek.	6) 18 μ	9,6 sek.	1,89 μ /sek.
2) 14 "	5,2 "	2,7 "	7) 22 "	7,6 "	2,9 "
3) 34 "	12,8 "	2,65 "	8) 10 "	4,4 "	2,27 "
4) 20 "	8,0 "	2,50 "	9) 14 "	5,6 "	2,5 "
5) 7 "	4,0 "	1,75 "	10) 13 "	7,6 "	1,71 "

Bac. butyricus H.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 36 μ	16,0 sek.	3,5 μ /sek.	6) 59 μ	13,2 sek.	4,47 μ /sek.
2) 36 "	13,6 "	2,65 "	7) 28 "	10,4 "	2,68 "
3) 24 "	9,2 "	2,60 "	8) 25 "	6,8 "	3,67 "
4) 40 "	14,8 "	2,70 "	9) 14 "	4,4 "	3,18 "
5) 7 "	1,6 "	"	10) 29 "	12,4 "	2,35 "

Bac. mesentericus f.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 20 μ	6,8 sek.	2,95 μ /sek.	6) 8 μ	8,0 sek.	1,0 μ /sek.
2) 14 "	4,8 "	2,92 "	7) 15 "	5,2 "	2,89 "
3) 10 "	4,4 "	2,27 "	8) 25 "	6,4 "	3,93 "
4) 36 "	7,6 "	4,08 "	9) 17 "	5,6 "	3,04 "
5) 6 "	4,0 "	1,5 "	10) 7 "	7,2 "	0,97 "

Vibrio cholerae.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 66 μ	4,0 sek.	1,5 μ /sek.	6) 6 μ	5,6 sek.	1,07 μ /sek.
2) 38 "	3,6 "	8,6 "	7) 50 "	8,0 "	2,5 "
3) 7 "	5,2 "	1,35 "	8) 8 "	5,6 "	1,03 "
4) 11 "	4,8 "	2,30 "	9) 6 "	3,2 "	1,87 "
5) 4 "	4,0 "	1,0 "	10) 28 "	6,4 "	4,38 "

Bac. pyocyaneus.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 7 μ	7,2 sek.	0,97 μ /sek.	6) 14 μ	8,0 sek.	1,75 μ /sek.
2) 4 "	4,4 "	0,91 "	7) 6 "	3,6 "	1,67 "
3) 8 "	6,4 "	1,25 "	8) 6 "	4,0 "	1,5 "
4) 17 "	12,0 "	1,45 "	9) 13 "	4,8 "	2,7 "
5) 13 "	6,8 "	1,91 "	10) 4 "	3,6 "	1,11 "

Vibrio proteus (Finkler-Prior).

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 10 μ	6,4 sek.	1,56 μ /sek.	6) 3 μ	6,4 sek.	0,47 μ /sek.
2) 13 "	5,6 "	2,32 "	7) 13 "	12,0 "	1,08 "
3) 6 "	3,6 "	1,67 "	8) 3 "	4,8 "	0,62 "
4) 3 "	2,4 "	1,25 "	9) 4 "	3,2 "	1,25 "
5) 4 "	1,2 "	3,34 "	10) 10 "	5,2 "	1,92 "

Bac. typhi.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 14 μ	20,0 sek.	0,70 μ /sek.	6) 6 μ	8,0 sek.	0,75 μ /sek.
2) 17 "	22,0 "	0,77 "	7) 14 "	5,6 "	2,50 "
3) 14 "	16,0 "	0,87 "	8) 4 "	7,2 "	0,55 "
4) 8 "	7,2 "	1,11 "	9) 15 "	7,6 "	1,97 "
5) 11 "	5,2 "	2,1 "	10) 20 "	8,0 "	2,50 "

Bac. megatherium.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 15 μ	7,2 sek.	2,08 μ /sek.	6) 14 μ	14,0 sek.	1,0 μ /sek.
2) 17 "	29,6 "	0,57 "	7) 28 "	18,4 "	1,52 "
3) 8 "	9,2 "	0,87 "	8) 13 "	8,4 "	1,55 "
4) 6 "	7,2 "	0,83 "	9) 11 "	12,0 "	0,92 "
5) 10 "	12,0 "	0,83 "	10) 3 "	5,2 "	0,57 "

Vibrio aquatilis.

Weg	Zeit	Geschwindigkeit	Weg	Zeit	Geschwindigkeit
1) 8 μ	12,0 sek.	6,66 μ /sek.	6) 3 μ	3,8 sek.	0,79 μ /sek.
2) 3 "	6,4 "	0,46 "	7) 7 "	8,0 "	0,87 "
3) 6 "	8,0 "	0,75 "	8) 4 "	3,2 "	1,25 "
4) 7 "	7,2 "	0,97 "	9) 8 "	8,8 "	0,92 "
5) 4 "	6,4 "	0,86 "	10) 3 "	4,0 "	0,75 "

Wenn man die Durchschnittszahlen für jede Bakterie berechnet, erhält man als die Fortbewegungsgeschwindigkeit der beobachteten Bakterien folgende Werte, welche man einigermaßen als charakteristisch für verschiedene Bakterien ansehen kann:

<i>Bac. subtilis</i>	3,41 μ /sek.	<i>Bac. pyocyaneus</i>	1,51 μ /sek.
<i>Proteus vulgaris</i>	3,27 "	<i>Finkler-Prior</i>	1,36 "
<i>Bac. butyricus</i>	3,03 "	<i>Bac. typhi</i>	1,15 "
<i>Bac. mesentericus</i>	2,555 "	<i>Bac. megatherium</i>	1,01 "
<i>Vibrio cholerae</i>	2,32 "	<i>Vibrio aquatilis</i>	0,79 "

Mit Benutzung des Zeichenspiegels (Abbe, Zeichenapparat Zeiss) zeichnete ich auch einige Bahnen, längs welchen die Vertreter entsprechender Bakterienarten zufällig im Gesichtsfeld gingen. Die Bahnen sind nach dem Maßstabe 1 : 1500 gezeichnet.

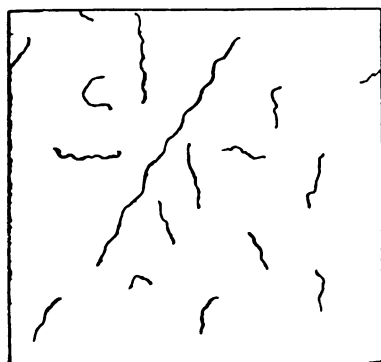


Fig. 1.
Bacillus subtilis.

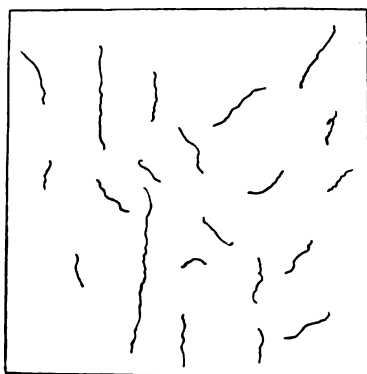


Fig. 2.
Proteus vulgaris.

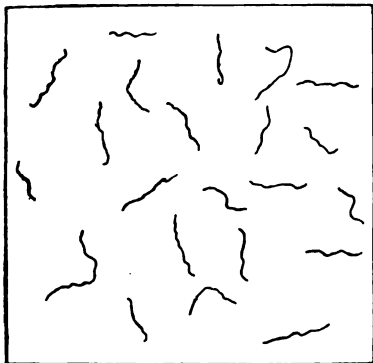


Fig. 3.
Bacillus butyricus.

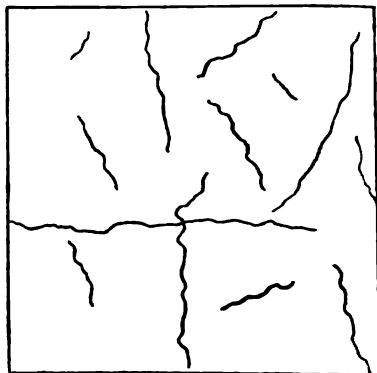


Fig. 4.
Bacillus mesentericus fusc.

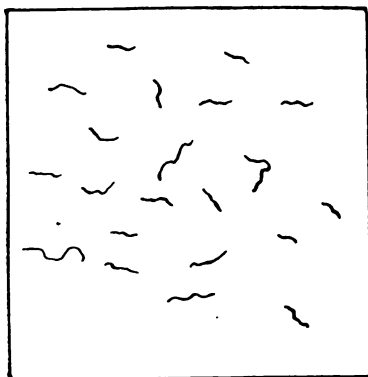


Fig. 5.
Vibrio cholerae.

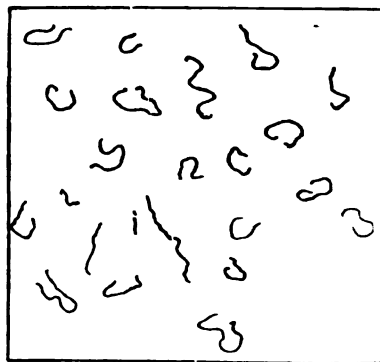


Fig. 6.
Bacillus pyocyaneus.

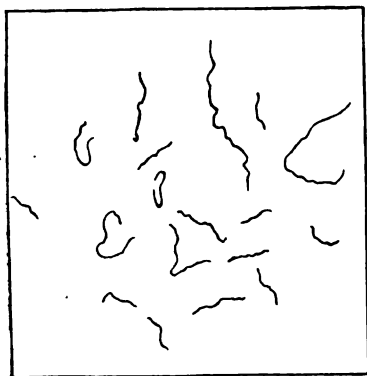


Fig. 7.
Finkler-Prior.

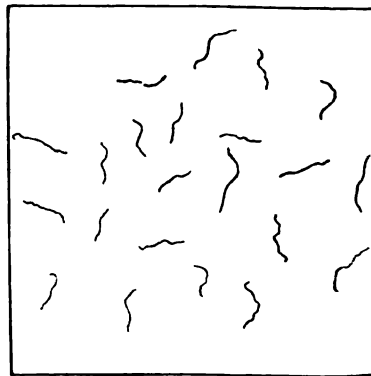


Fig. 8.
Bacillus typhi.

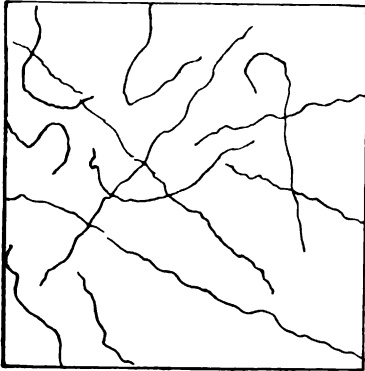


Fig. 9.
Bacillus megatherium.

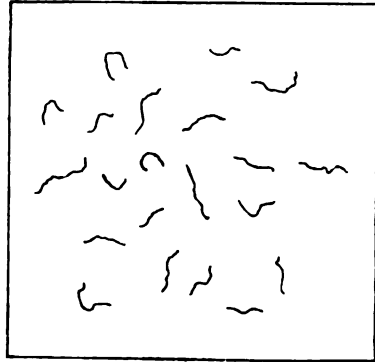


Fig. 10.
Vibrio aquatilis.

Im Vergleich mit den von Gabritschewsky dargestellten Werten sind alle die oben erwähnten Zahlen sehr klein. Die größte Geschwindigkeit $8,6 \mu/\text{sek.}$ wurde von einem *Vibrio cholerae* erreicht, aber eine so große Geschwindigkeit wie $100 \mu/\text{sek.}$ wurde von keiner dieser Bakterienarten erreicht.

Was wieder die Formen der Fortbewegungskurven betrifft, so ist es schwer, dieselben mit den Darstellungen von Koch, Cohn, Migula u. A. zu vergleichen. Wenn man sie gegenseitig vergleicht, scheint es, als ob sie sehr charakteristische Formen hätten. Die Bahnen von *Bac. megatherium* und *Bac. subtilis* sind beinahe ausnahmslos geradlinig. Besonders interessant und charakteristisch sind die exzentrischen Bahnen von *Bac. pyocyaneus*.

Es sei erwähnt, daß die Beobachtungen mit aus 5-tägigen Agarkulturen genommenen Bakterien gemacht wurden bei einer Temperatur von 20°C in einem Wassertropfen, der 1 Proz. Kaliumnitrit enthielt, weil diese Umstände — nach Mironescu, Günther, Schottelius und Wasserzug — auf die Bewegungsintensität der Bakterien einwirken können.

Nachdruck verboten.

Impftuberkulose der Kaltblüter.

[Aus dem Institut Josiöyen in Tokio (Direktor: Prof. S. Kitasato).]
Von Dr. **Gozo Moriya**, Tokio.

Mit 1 Tafel.

Während eine Reihe von Autoren die krankmachende Wirkung der echten Tuberkelbacillen gegenüber Kaltblütern experimentell nachgewiesen haben, fielen die Versuche anderer Forscher negativ aus. Auch in bezug auf die Frage der Umwandlung der echten Tuberkelbacillen in die Kaltblütertuberkelbacillen durch Hindurchführen durch den Körper der Kaltblüter sind die Angaben verschieden.

Im Jahre 1905 veröffentlichten Weber und Taute die Resultate einer Untersuchung, welche ergab, daß in der Leber von mit Rinder-, Hühner- bzw. menschlichen Tuberkelbacillen geimpften Fröschen nach mehreren Monaten die einverleibten Bacillen lebensfähig und virulent geblieben waren. Bemerkenswert ist es hier, daß die Genannten in vielen Fällen aus der Leber der geimpften Tiere zugleich auch sogenannte Kaltblütertuberkelbacillen herauszüchten konnten. Außerdem konnten sie säurefeste Stäbchen aus nichtgeimpften Fröschen, Moos und Schlamm gewinnen. Nach der Ansicht von Weber und Taute sollen diese säurefesten Stäbchen im Froschkörper nichts anderes sein, als von der Umgebung durch die Haut eingedrungene Saprophyten; eine Umwandlung der echten Tuberkelbacillen kann nicht so leicht und rasch stattfinden.

Im Jahre 1903 hat S. Hada im Institut für Infektionskrankheiten zu Tokio Tuberkelbildung an Leber und Peritoneum der mit Rinder- oder menschlichen Tuberkelbacillen geimpften Frösche und Schildkröten gesehen.

In der Zeit von März 1905 bis März 1907 habe ich auf Anregung des Herrn Prof. S. Kitasato dieses Thema in Arbeit genommen. Als Versuchstiere nahm ich Schildkröte und *Bufo vulgaris* vor. Eine Reinkultur von menschlichen Tuberkelbacillen wurde im Glasmörser fein zerrieben, in 0,8-proz. Kochsalzlösung aufgeschwemmt und intraperitoneal injiziert. Nach Wochen oder Monaten wurden die Tiere, um ein sauberes Material zur bakteriologischen Untersuchung zu bekommen, getötet und seziiert. Zum Teil sind die Tiere inzwischen verendet, diese habe ich zu pathologisch-anatomischen Zwecken verwendet.

Pathologisch-anatomischer Befund. In den ersten Tagen nach der Impfung erfolgt eine seröse Exsudation mit mono- und poly-nukleären Leukocyten. In der punktierten Bauchflüssigkeit werden die einverleibten Tuberkelbacillen zum Teil frei, zum Teil im Leibe der Leukocyten, die letzteren einzeln oder in Ballen zusammengesetzt vorgefunden. Die Tuberkelbacillen und Leukocyten setzen sich mit ausgeschiedenem Fibrin auf dem Peritoneum oder den Bauchorganen ab; an der Leberoberfläche der Schildkröte bildet sich auf diese Weise oft eine ausgedehnte Membran. Die Fibrinmasse sieht erst durchscheinend gallertig aus und ist leicht abzuschaben; mit der Produktion der Bindegewebsfibrillen nimmt sie eine grauweiße Farbe an, wird derb und sitzt fest an der Organfläche. Durch diesen Vorgang verwachsen die Bauchorgane und das Peritoneum miteinander, es bildet sich eine faden-

förmige Verbindungsbrücke zwischen entfernteren Organen aus. Die Knötchenbildung kann überall in diesen pathologischen Geweben stattfinden. Die sich zuerst oberflächlich ausbildenden Knötchen haben die Neigung, sich in die Tiefe der Organsubstanzen einzusenken, bis sie schließlich völlig von der Oberfläche abgeschlossen werden; doch bleiben die resistenteren Organe, wie Panzer und Knochen, stets intakt, auch wenn der Peritonealüberzug an diesen Stellen affiziert wird. Die einzeln isoliert stehenden Knötchen sind von kugeliger Form; durch Verschmelzen der dicht nebeneinander befindlichen Knoten nehmen sie unregelmäßige Gestalt an; sie bilden sogar auch Konglomerate. Der Umfang der Knoten variiert von miliarer Größe bis zu dem einer Erbse. Die Knötchen sind an der Oberfläche grauweiß, glatt; die älteren sind von ziemlich derber Konsistenz, so daß man sie im Leberparenchym mit der Pincette tasten kann. Bei Bufo sind aber die Knötchen infolge des Zellenreichtums resp. der geringeren Ausbildung der Bindegewebsfasern weicher als bei der Schildkröte. Die Schnittfläche der Knoten ist ebenso grauweiß, abgesehen von makroskopisch wahrnehmbaren braunen Flecken. Diese Flecke von lehmartiger Beschaffenheit bestehen mikroskopisch aus zerfallenen nekrotischen Substanzen und äußerst zahlreich angehäuften Tuberkelbacillen, die selbst in älteren Tuberkeln auch in mäßig großer Anzahl vorhanden und leicht zu färben sind; im ganzen stellen die Flecke einen verkästen Herd dar. Der verkäste Herd befindet sich gewöhnlich im Zentrum des Knötchens. In größeren Tuberkeln können mehrere verkäste Herde vorhanden sein, deren Sitz und Form verschieden sind. Ringsherum wird der Herd von den dicht geschichteten Epithelioid- oder Riesenzellen umschlossen. Außer Tuberkelbacillen sind noch durch Eosin oder Hämatoxylin punkt- oder fadenförmig sich tingierende Bilder im Herd als Rest der zerfallenen Gewebszellen zu erkennen.

Die wesentlichen Zellelemente des Knötchens, d. h. Riesenzellen, Epithelioidzellen und Leukocyten werden zum Teil einzeln, zum Teil zu Schwärmen angehäuft gefunden. Im Leibe aller dieser Zellarten können die Tuberkelbacillen enthalten sein, und zwar oft in sehr großer Anzahl, so daß der Zelleib durch dicht aneinander gedrängte Bacillen ganz angefüllt wird. Eine Rundzelleninfiltration der Knoten und deren Umgebung ist ein gewöhnlicher Befund, dagegen habe ich eosinophile Leukocyten nur bei einer Schildkröte gesehen.

Zwischen den Zellenschwärmen und verkästen Herden verlaufen feine, bündelweise, zum Teil netzförmig angeordnete Bindegewebsfibrillen, in welche einzelne Phagocyten eingelagert sind. Außerhalb ordnen sich die stärkeren Fasern in zirkulärer Richtung und stehen mit dem Bindegewebe der Umgebung in Zusammenhang.

Eine Erweichung und Zerfließen des Knötchens kommt nicht vor. Die Tuberkelbacillen bleiben demnach stets in den tuberkulösen Läsionen verschlossen. Eine Ausscheidung der Tuberkelbacillen aus dem Tierkörper oder ein Uebertritt in entferntere Teile des Körpers wird nicht beobachtet.

Nach dem Verhalten bei der Färbung und nach der Form zu schließen, sind die Tuberkelbacillen zum Teil als degeneriert, zum Teil als wohl-erhalten anzunehmen, wie man dies auch im Phthisikersputum anzutreffen pflegt. Es ist aber hier zu bemerken, daß man manchmal ausgeprägt verdickte, gleichmäßig intensiv gefärbte Individuen findet; diese dicken Bacillen treten auch oft in kurzer Form auf. Die kürzesten sind oval,

etwa in der Form des *B. prodigiosus*. Ob die letzteren als degeneriert oder als durch zu schnell wiederholte Teilung entstanden aufzufassen sind, läßt sich nicht mit Sicherheit entscheiden.

Der tuberkulöse Prozeß greift nur die Organe an, die mit der Impfstelle in offener Kommunikation stehen, d. h. Leber, Darmrohr, Mesenterium, Bauchwandperitoneum, Blase, Lunge und subkutane Gewebe in der Umgebung des Impfstiches. Bei der Schildkröte stellt die Leber eine Prädispositionsstelle dar, bei *Bufo* ist es jedoch nicht der Fall.

Die Empfänglichkeit der Versuchstiere menschlichen Tuberkelbacillen gegenüber scheint hauptsächlich von folgenden drei Umständen abhängig zu sein:

1) Individuelle Verschiedenheit. Werden mehrere gleichnamige Tiere zu gleicher Zeit mit derselben Menge Bacillen geimpft und in einem Raum gehalten, so kann bei einem eine sehr intensive Affektion auftreten, während bei anderen eine viel geringere oder gar nichts gefunden wird.

2) Temperatur, bei welcher die Tiere gehalten werden. In wärmeren Jahreszeiten oder in einem etwa über 15°C geheizten Raum werden die Tiere stärker angegriffen als im Winter oder bei niedrigeren Temperaturen. Die bereits vorgeschrittene Läsion wird aber nicht mehr leicht resorbiert, auch wenn das Tier draußen überwintert; bei einigen die Winterkälte durchmachenden Schildkröten sah ich 15–18 Monate nach der Impfung eine ausgiebige Tuberkulose an Leber, Mesenterium und Peritoneum.

3) Menge der verimpften Tuberkelbacillen. Eine geringe Anzahl von Tuberkelbacillen ist unfähig, auf den Kaltblüterorganismus krankmachend zu wirken. In der Regel habe ich mit 0,5 ccm der oben-erwähnten Tuberkelbacillenaufschwemmung Schildkröten von 300–400 g Gewicht injiziert, um eine zum weiteren Kulturversuch ausreichende Tuberkulose zu erzeugen. In der ersten Zeit meines Versuches habe ich an verschiedenen Tagen im ganzen 10 Schildkröten mit zerriebenem Tuberkulosematerial aus den Schildkröten, denen die Tuberkelbacillenkultur verimpft war, injiziert und die Tiere warmgehalten. Die Sektion wurde nach 18–70 Tagen vorgenommen. 5 Tiere davon zeigten mehr oder weniger Knötchenbildung mit positivem Bacillenbefund, aber keine ausgebreitete Tuberkulose. Mit diesem Knötchen wurden wieder 4 Schildkröten geimpft; die Versuche fielen völlig negativ aus. Der Grund des negativen Resultates bei dieser dritten Gruppe liegt wahrscheinlich darin, daß die Zahl der im Impfmateriel enthaltenen Tuberkelbacillen nicht ausreichte, um eine tuberkulöse Veränderung hervorzurufen; die spärlichen Keime werden durch die Abwehrkraft des Kaltblüterorganismus vernichtet worden sein.

Eine 4 Stunden bei 80°C erhitzte, kulturell und tierexperimentell sich steril erwiesene Aufschwemmung der Tuberkelbacillen wurde 2 Schildkröten in die Bauchhöhle eingeführt. Die eine, nach 28 Tagen getötet, zeigte tuberkulöse Veränderung subkutan an der Impfstelle. Bei der anderen, nach 34 Tagen seziierten, fanden sich in der lose mit der Bauchwand verwachsenen Leber einige miliare und linsengroße Tuberkel. Histologisch waren diese Tuberkel genau so gebaut, wie bei den mit lebenden Bacillen geimpften Tieren; die gefundenen Bacillen lassen sich auch ziemlich gut färben. Die Intensität der Läsion tritt aber bei toten Bacillen viel leichter auf.

2 Schildkröten wurden mit einer Aufschwemmung des Kartoffelbacillus intraperitoneal injiziert und bei Blutwärme gehalten. Beide

wurden nach 2 Tagen durch exsudative Peritonitis verendet aufgefunden. Bei Zimmertemperatur dagegen hatte eine andere Schildkröte 35 Tage lang lebensfähige Kartoffelbacillen in der Bauchhöhle beherbergt; wieder bei einer anderen waren die verimpften Heubacillen nach 65 Tagen völlig verschwunden. Pathologisch-anatomisch haben die beiden letzteren Tiere nichts Auffallendes gezeigt. Bacillen, welche widerstandsfähige Sporen enthalten, können demnach im Leibe der Schildkröte mehrere Wochen existieren, ohne dem Wirt eine bleibende Krankheitsveränderung zu verursachen.

Mit 2 Stammkulturen menschlicher Tuberkelbacillen oder den aus den geimpften Schildkröten und *Bufo* herausgezüchteten Reinkulturen menschlicher Tuberkelbacillen habe ich im ganzen 43 Schildkröten und 18 *Bufo* geimpft. 27 Schildkröten davon wurden warm gehalten; unter diesen ergaben sich bei 23 pathologisch-anatomische positive Befunde, von denen mir eine Reinkultur der Tuberkelbacillen in 12 Fällen gelang. 16 Schildkröten machten bei Lufttemperatur den Winter durch, davon waren 6 mehr oder weniger tuberkulös affiziert mit negativen kulturellen und tierexperimentellen Resultaten.

Unter 18 *Bufo*, die alle im Sommer und Herbst zum Versuch kamen, ließen 13 eine Knötchenbildung erkennen. Die Tuberkelbacillen wurden 2mal reingezüchtet.

Wie oben erwähnt, wird eine allgemeine Tuberkulose bei den Impftieren nicht beobachtet. Die Läsion im Peritonealraum der geimpften Schildkröte erreicht aber nicht selten einen sehr hohen Grad und eine große Ausbreitung, so daß man dabei eine Vermehrung der einverleibten Keime und eine Destruktion der Organzellen nicht ableugnen kann. Bei *Bufo* ist aber die Affektion im allgemeinen geringer als bei der Schildkröte. Das weitere Schicksal der einmal im Tierkörper vermehrten Tuberkelbacillen ist ein allmählicher Untergang; so können die Tiere ihre Impftuberkulose überstehen. Ein Teil der Impftiere geht zwar während der Versuchszeit zu Grunde; die direkte Todesursache ist aber in den meisten Fällen wahrscheinlich in der widernatürlichen Lebensweise im Laboratorium zu suchen.

Zur Untersuchung der spezifischen Agglutinine im Serum geimpfter Schildkröten nahm ich das Blut in 9 Fällen aus dem Arterienbogen auf. Das klar ausgeschiedene Serum wurde mit Kochscher Testflüssigkeit versetzt und 24 Stunden im Brütoven gehalten.

Es reagierten:

Fall I	stark	im Verhältnis	1 : 100,	schwach	im Verhältnis	1 : 200,
" II	"	"	1 : 75,	"	"	1 : 150,
" III	"	"	1 : 10,	"	"	1 : 50,
" IV	"	"	1 : 5,	"	"	1 : 25.

Die übrigen 5 Fälle haben entweder im Verhältnis 1 : 5 oder 1 : 2 nur schwach agglutiniert. Ich bezeichne als „stark“ eine Reaktion, bei welcher grobe Flocken in der klaren Flüssigkeit schwimmen, als „schwach“ eine Reaktion, bei welcher die ganze Flüssigkeit trübe bleibt, mit wahrnehmbarer feiner Flockenbildung.

Zur Kontrolle nahm ich 5 Schildkröten.

Es reagierten:

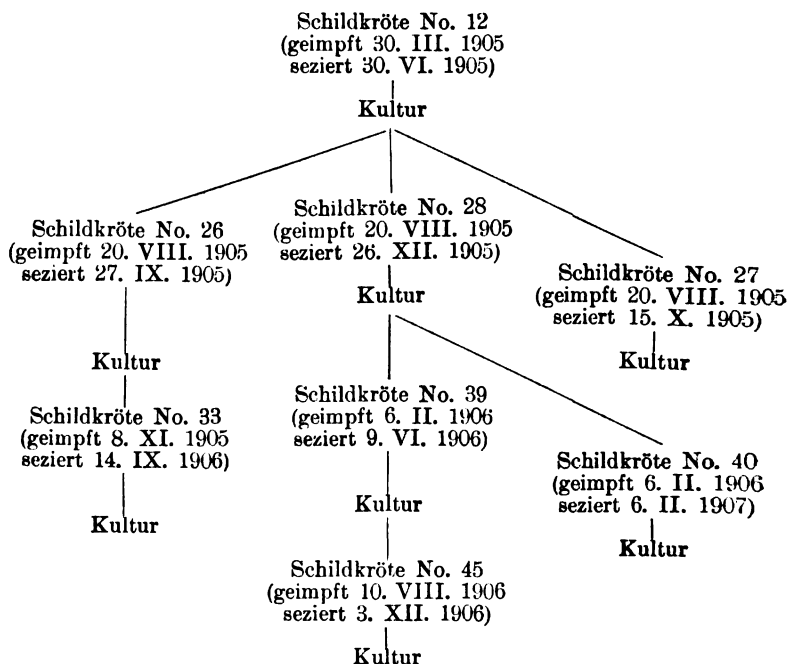
Fall I u. II	stark	im Verhältnis	1 : 100,	schwach	im Verhältnis	1 : 200,
" III	"	"	1 : 75,	"	"	1 : 150,
" IV	"	"	1 : 10,	"	"	1 : 25,
" V	"	"	1 : 5,	"	"	1 : 10.

Die schwächste Reaktion wird bei geimpften, sehr heruntergekommenen Individuen beobachtet; das Blut eines so abgeschwächten Tieres ist rostfarbig, hydrämisch, mit schwacher Gerinnungsfähigkeit. Aus diesem Versuch ist zu ersehen, daß der Schildkrötenorganismus nicht nur keine Fähigkeit hat, nach Tuberkelbacillenimpfung spezifische Agglutinine zu produzieren, sondern auch die bereits vorhandenen verliert.

Zwecks Entscheidung einer Umwandlung menschlicher Tuberkelbacillen in Kaltblütertuberkelbacillen habe ich, wie oben erwähnt, aus 12 geimpften Schildkröten und 2 Bufo Tuberkelbacillen in Reinkultur herausgezüchtet. Als Nährmaterial wurde 2-proz. Glycerin-Pferdeserum, Glycerinbouillon-Pferdeserum und nach Nakajos Vorschrift angefertigtes 2–5-proz. Eigelb-Pferdeserum angewandt. Das beginnende Wachstum tritt auf Eigelbserum am raschesten ein, doch bleibt hier der ausgebildete Belag stets dünn, sieht feucht, schmierig und körnig aus und wächst gar nicht auf dem Kondenswasser. Das erste Wachstum aus Tiermaterial ist auf Eigelbserum am Ende der 3. Woche makroskopisch wahrzunehmen, während es auf dem ersten Nährboden noch 1 Woche länger dauert.

Der tuberkulöse Herd der verendet gefundenen Tiere ist immer durch post mortem gedeihende Bakterien verunreinigt. Um solch ein unerwünschtes Bakterienwachstum, durch welches auch die Versuchsergebnisse irregeleitet werden können, zu vermeiden, habe ich das Kulturmaterial gleich nach Abtötung der Tiere herausgenommen. Trotzdem wurden die mit Material von Bufo beschickten Nährröhrchen meistens durch schnell wachsende, nicht säurefeste Stäbchen überwuchert; bei Schildkröten gelang dagegen eine Reinzüchtung der Tuberkelbacillen viel leichter.

Unter anderem habe ich auch eine Tuberkelbacillenkultur wiederholt durch den Schildkrötenkörper hindurchgeführt und jedesmal den



geimpften Bacillenstamm wieder herausgezüchtet. Die Reihenfolge dieser Fälle findet sich in vorstehender tabellarischer Uebersicht.

Eine Stammkultur hat also einerseits in der ersten Schildkröte (No. 12) 3 Monate, in der zweiten (No. 28) 4 Monate und in der dritten (No. 40) 12 Monate zugebracht; andererseits bereits 4 Schildkröten (No. 12, 28, 39, 45) hindurchpassiert. Falls eine Charakterveränderung des Bacillenstammes eingetreten sein würde, ist der Verdacht auf Wiederherstellung der ursprünglichen Eigenschaften auf ein Minimum reduziert, weil der Stamm während dieser Versuchsreihe nie wieder einen Warmblüter durchmachte.

Die sämtlichen 14 Reinkulturen, die aus geimpften Tieren wieder herausgezüchtet wurden, erwiesen sich kulturell und tierexperimentell vollkommen identisch mit der ursprünglichen Stammkultur. In den bei niedriger Temperatur gestandenen Röhrchen, die mit dem Tiermaterial beschickt waren, habe ich niemals ein Wachstum säurefester Bacillen gesehen.

Gelegentlich wurden auch mehrere nicht geimpfte Tiere pathologisch-anatomisch und bakteriologisch auf spontane Tuberkulose untersucht, stets aber vergeblich.

Aus diesem Versuch kann ich mit Recht darauf schließen, daß die menschlichen Tuberkelbacillen durch Kaltblüterpassage sich gar nicht so leicht in die Kaltblütertuberkelbacillen umwandeln, auch wenn gewisse Varietäten der echten Tuberkelbacillen durch Einfluß bestimmter Nährböden oder artfremder Warmblüter tatsächlich nachgewiesen worden sind. Wenn eine Umwandlung echter Tuberkelbacillen in Kaltblütertuberkelbacillen wirklich stattfinden sollte, müssen die mit demselben Material in derselben Weise vorgenommenen Versuche stets oder wenigstens in den meisten Fällen dasselbe Resultat ergeben; die bisher berichteten Beobachtungen einer Umwandlung beziehen sich aber nur auf seltene Fälle. Meiner Ansicht nach bedürfen sie noch weiterer Bestätigung.

Die Angabe von Weber und Taute stimmt mit meinem Resultate darin überein, daß eine Umwandlung echter Tuberkelbacillen nicht gelungen ist. Während aber jene beiden Forscher wiederholt die Kaltblütertuberkelbacillen und andere säurefeste Bacillen aus den geimpften und nicht geimpften Fröschen in Reinkultur bekamen, ist das bei mir nicht gelungen.

Zum Schluß ist es mir eine angenehme Pflicht, dem Herrn Prof. S. Kitasato für das aufgegebene Thema und für die freundliche Anleitung und dem Herrn K. Takezaki für die freundliche Hilfeleistung bei der histologischen Untersuchung meinen ergebensten Dank zu sagen.

Nachtrag.

Nach Abschluß der oben angeführten Arbeit erhielt ich die Mitteilung von Sörgo und Suess, „Ueber Versuche mit Tuberkelbacillensstämmen menschlicher Herkunft an Schlangen und Blindschleichen und über Mutationen menschlicher Tuberkelbacillen“. Die beiden Forscher haben 20 Schlangen und 2 Blindschleichen menschliche Tuberkelbacillen subkutan eingeimpft; davon wurden 4 Schlangen und 2 Blindschleichen tuberkulös affiziert. Aus allen diesen 6 Tieren konnten sie säurefeste Bacillen herauszüchten, und zwar haben sie in 3 Fällen mehr oder weniger eine Charakterveränderung der geimpften Stäbchen beob-

achtet. Im ersten Falle wurde eine Blindschleiche mit einer 9 Monate alten und $6\frac{1}{2}$ Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kultur menschlicher Tuberkelbacillen subkutan geimpft. Zu bemerken ist hier, daß die säurefesten Bacillen, die aus Leberknötchen der 24 Tage nach der Impfung verwendeten Tiere herausgezüchtet wurden, auch auf gewöhnlichem Agar wuchsen. Sonst verhielten sie sich wie der typische menschliche Tuberkelbacillus. Im zweiten Falle wurde eine Schlange mit einer $13\frac{1}{2}$ Monate alten und $11\frac{1}{2}$ Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kultur menschlicher Tuberkelbacillen subkutan geimpft. Die aus mediastinalen Tuberkelknötchen der nach 59 Tagen verwendeten Tiere gezüchteten säurefesten Bacillen wuchsen bloß bei Zimmertemperatur und hatten keine Pathogenität für Meerschweinchen. Im dritten Falle wurde eine Schlange mit einer 9 Monate alten, $7\frac{1}{2}$ Monate bei Zimmertemperatur aufbewahrten Kultur menschlicher Tuberkelbacillen subkutan geimpft. Die aus der Impfstelle und aus einem Lungenknötchen der nach 57 Tagen verwendeten Tiere gezüchteten säurefesten Bacillen wuchsen bloß bei Zimmertemperatur. Sie verhielten sich kulturell und tierexperimentell identisch mit dem Kaltblütertuberkelbacillus. Außerdem haben sie aus Leberknötchen von einer unter den 5 nicht geimpften tot aufgefundenen Schlange Kaltblütertuberkelbacillen in Reinkultur bekommen.

Es ist hier aber zu berücksichtigen, daß Sörgo und Suess die Lebensfähigkeit ihrer äußerst lange aufbewahrten Kultur nicht sicher beweisen konnten. Sie schreiben: „Die einmalige Ueberimpfung jedes einzelnen dieser Stämme auf je 2 Glycerinagarnährröhrchen ergab weder bei Brutschrank- noch bei Zimmertemperatur Wachstum.“ Sie haben daneben keinen Impfversuch an Meerschweinchen gemacht. Im dritten Falle schreiben sie: „Die Kultur war, wie das Mikroskop und Ueberimpfungen erweisen, eine Reinkultur von blassen, säurefesten, sehr feinen Stäbchen.“ Zwar bekamen sie im ersten Falle aus einer geimpften Blindschleiche menschlichen Tuberkelbacillen ähnliche Stäbchen, doch war diese Kultur kein typischer menschlicher Tuberkelbacillus. Daraus kann man also nicht erkennen, daß die zur Impfung verwendete alte Kultur lebensfähig war. Meines Erachtens ist der Nachweis mit Meerschweinchen nicht zu vernachlässigen, weil tote Tuberkelbacillen auch einen tuberkulösen Prozeß an Kaltblütern erzeugen können wie die lebenden.

Sörgo und Suess haben Kulturversuche aus dem Krankheitsherd nach dem Tode der Tiere gemacht. Eine Verunreinigung durch Bakterien, die mit dem Krankheitsprozeß nichts zu tun haben, kann post mortem leicht stattfinden; auch eine Reinkultur menschlicher Tuberkelbacillen wird dadurch erschwert.

Daß man aus den nicht geimpften Kaltblütern sogenannte Kaltblütertuberkelbacillen oder andere säurefeste Stäbchen herauszüchten kann, darauf wurde schon von vielen Seiten hingewiesen. Weber und Taute konnten sogar wenigstens in 17 Fällen aus den Fröschen, die mit echten Tuberkelbacillen geimpft wurden, nicht nur echte Tuberkelbacillen, sondern auch Kaltblütertuberkelbacillen bezw. andere säurefeste Bacillen herausbekommen. Weber und Taute haben einerseits echte Tuberkelbacillen durch Verimpfung der Froschleber auf Meerschweinchen und andererseits Kaltblütertuberkelbacillen aus ein und derselben Leber kulturell nachgewiesen. Sörgo und Suess dagegen haben nur das Material aus geimpften Tieren kulturell verarbeitet und keine direkte

Fig. 1.

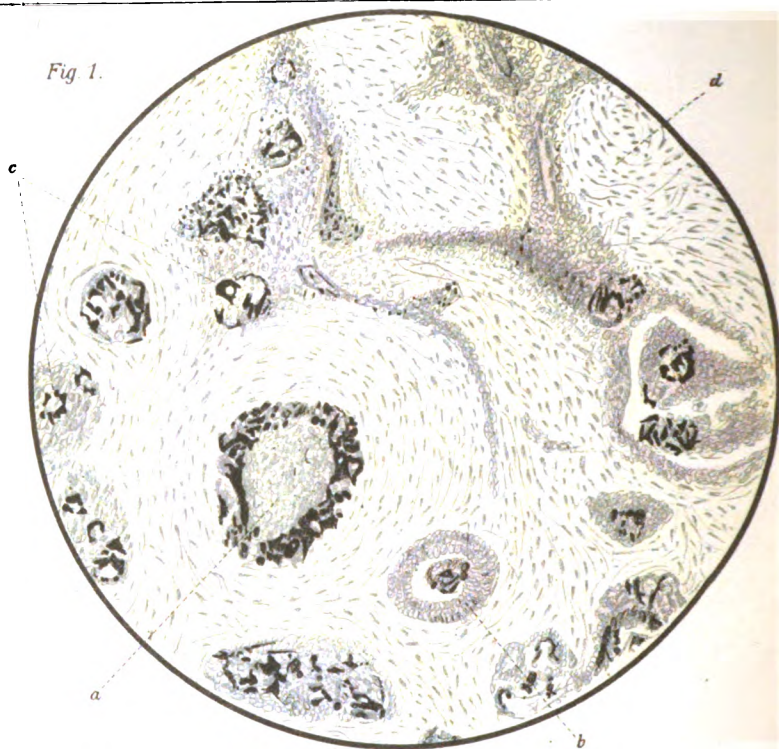
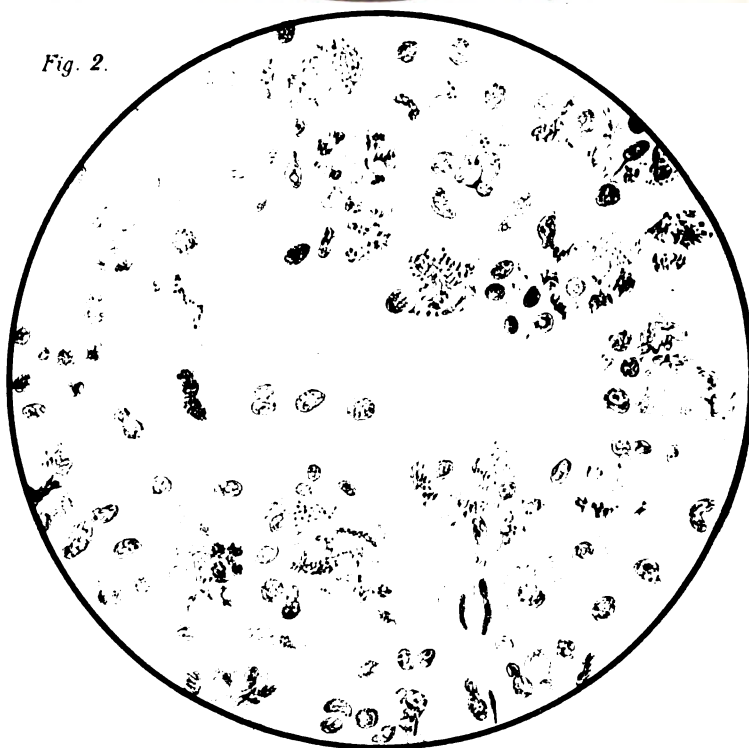


Fig. 2.



Verimpfung auf Meerschweinchen ausgeführt. Daß ein Kulturversuch zum Nachweis der menschlichen Tuberkelbacillen eine unsichere Methode darstellt, ist eine bekannte Tatsache.

Erklärung der Tafel.

Fig. 1. Tuberkel an der Leber einer 84 Tage nach Impfung mit menschlichen Tuberkelbacillen sezierten Schildkröte. Vergrößerung 24-fach. *a* Verkäster Herd, *b* Epithelioidzellen, *c* Riesenzellen, *d* Bindegewebe.

Fig. 2. Menschliche Tuberkelbacillen in Epithelioidzellen. Das Schnittpräparat von einem Tuberkel an der Leber des 34 Tage nach Impfung mit menschlichen Tuberkelbacillen sezierten Bufo. Vergrößerung 420-fach.

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über Syphilis.

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin (Vorstand: Geh. Reg.-Rat Prof. F. E. Schulze).]

II. Der Erreger der Syphilis.

Von J. Siegel.

Mit 4 Abbildungen im Text und 5 Tafeln mit 14 Figuren.

(Fortsetzung.)

In Uebereinstimmung mit meiner Auffassung der Silberspiralen als Fibrillen steht noch folgende Beobachtung. In ganz jungen syphilitischen Föten, bei denen die Gewebisdifferenzierung der Fibrillen noch nicht vor sich gegangen ist, fehlen die Silberspiralen (Bab und Mühlens), während sie andererseits bei solchen Neugeborenen nicht gefunden wurden, die länger als einige Wochen nach der Geburt noch lebten (5, 12, 16 Wochen, Wiesner und Rach). Hier war die Veränderung der Leber nicht so hochgradig, daß die Fibrillenlockerung hervorgetreten wäre.

Einen weiteren Beweis, daß Nekrose die Ursache des Hervortretens von spiraligen Fasern sein kann, gibt der kürzlich erschienene, oben schon berührte Bericht Sakuranos. Der Sonderabdruck dürfte wenig bekannt geworden sein, ich will daher bei der Wichtigkeit dieses Befundes, der ganz meinen Voraussetzungen entspricht, nicht unterlassen, die Abbildung Sakuranos (Taf. I, Fig. 3) zu reproduzieren. Sakurano entnahm einem pockenkranken Menschen eine „reiskorngroße, eitrig aussehende Masse grauen nekrotischen Gewebes“ vom linken Nasenflügel und behandelte es nach Levaditi. „In den Schnittpräparaten des obengenannten nekrotischen Gewebes, bestehend aus der tieferen Epidermis- und der oberen Papillarschicht, entdeckte ich ohne besondere Schwierigkeiten eine Art Spirochäten.... Sie haben dieselben Eigenschaften wie die *Spirochaete pallida* bei Syphilitikern. Die Windungen folgen dicht nebeneinander, sind zahlreich, steil und meist regelmäßig. Die Gestalt ist sehr fein und ziemlich lang.... Außerdem gibt es auch solche Spirochäten, welche mehr oder weniger unregelmäßige Windungen aufweisen. Wohl aber schien es mir gerechtfertigt anzunehmen, daß es sich um ein- und dieselbe Spirochätenart handelt.“ Von Giemsa-Färbung desselben Präparates wird nichts berichtet. Dieser Befund Sakuranos bestätigt

also wiederum, daß Nekrose die Bedingung des Sichtbarwerdens der Gewebsspirochäten ist, und scheint mir deswegen besonders wertvoll zu sein. Sakurane, der die Spiralen für Parasiten zu halten scheint, spricht sich über ihre ätiologische Bedeutung sehr vorsichtig aus. Es würde mich aber nicht wundern, wenn von irgend einer Seite diese Spiralen, da doch in der Zeit der Spirochätenära alles möglich ist, nunmehr als die Erreger der Pocken erklärt würden.

Ein weiteres Beispiel von „Silberspirochäten“ in nekrotischem Gewebe sind die Präparate von Lungengangrän eines nichtsyphilitischen Menschen, die Küster auf der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Dresden demonstrierte. Aus einem solchen, mir liebenswürdigerweise zur Verfügung gestellten Präparate, habe ich mit Einwilligung des Autors eine Stelle photographisch fixiert (Tafel I Fig. 4). Man erkennt bei schwacher Vergrößerung deutlich das Netz der elastischen Fasern in einem Blutgefäß, das, an einen Kolliquationsherd grenzend, zum Teil in Auflösung befindlich ist. Bei starker Vergrößerung sehen die einzelnen Fäserchen aus wie Spirochäten. Einzelne Fibrillen, die in den angrenzenden bakterienhaltigen Kolliquationsherd geraten sind, können bei Silberbehandlung unmöglich mehr von Spirochäten unterschieden werden, während sie im Zusammenhange in der Wand deutlich ihre Natur verraten. Mit Giemsa-Farbstoff wurden nach brieflicher Mitteilung des Herrn Dr. Küster Spirochäten bisher noch nicht nachgewiesen. Sollte der Nachweis von wirklichen Spirochäten in dem mit Bakterien stellenweise stark durchsetzten Gewebe doch noch gelingen, so würde das Vorkommen von wirklichen Spirochäten unter so vielen anderen Bakterien gegen die Deutung der Spiralenetze in der Gefäßwand als elastische Fasern auch nichts beweisen.

In letzter Zeit hat man aus dem gleichzeitigen Nachweis von Silberspiralen im Schnitt von syphilitischen Organen Neugeborener und Giemsa-Spirochäten im Ausstrich derselben Organe auf die Identität dieser Gebilde einen Schluß ziehen wollen. Besonders Mühlens glaubte diesen Nachweis erbringen zu können. Wie ich schon oben auseinandersetze, ist, nachdem die Möglichkeit der Silberfärbung von Spirochäten nachgewiesen wurde, die Möglichkeit, daß in den mit Silber gefärbten Schnitten unter den vielen Spiralen ein Teil Spirochäten vorstellen könne, nicht von der Hand zu weisen. Es wird immer der Kontrolluntersuchung mit Giemsa-Färbung von Fall zu Fall bedürfen unter Berücksichtigung des Typus der Spirochäten und der Mengenverhältnisse. So viel kann man aber sicher sagen, bei den syphilitischen Neugeborenen und Föten ist das, was allgemein als Spirochäte gezeigt wird, nicht identisch mit den wirklichen Spirochäten. Das wird bewiesen durch den ganz verschiedenen Typus, den die Spirochäten, mit Silber behandelt, im Schnitt und, mit Giemsa behandelt, im Ausstrich zeigen. Diese Differenz ist auch schon längst den Spirochätenanhängern aufgefallen. Ich verweise nur auf Wersilowa und Dreyer. Durch Schrumpfung ist diese Differenz nicht zu erklären, denn bei diesem Prozeß würden ganz andere Bilder resultieren müssen. Außerdem kann man sich auch von der absoluten Inkongruenz der Menge der Giemsa-Spirochäten und Silberspirochäten überzeugen, wenn man eine größere Anzahl von Kinderleichen untersucht, wie es in meinem Laboratorium geschehen ist. Es kommen Fälle vor, in denen sehr viel Silber- und sehr viel Giemsa-Spirochäten der Zahl nach anscheinend parallel gehen. Andererseits gibt es Fälle, bei denen keine, auch bei intensivster Färbung, keine einzige

Giemsa-Spirochäten sichtbar wird, während das ganze Gewebe gewissermaßen nur aus Silberspiralen zu bestehen scheint. Ferner sah ich Fälle, bei denen die Ausstriche, mit Giemsa gefärbt, geradezu von Spirochäten wimmelten, während in den Schnitten die Silberspiralen sich nur äußerst spärlich zeigten. Man hat diese Verhältnisse durch die schwere Färbbarkeit der Spirochäten infolge der Mazeration der Organe erklären wollen (Beitzke, Mühlens), doch ist diese Erklärung hinfällig, da ja ganz dieselben Verhältnisse auch bei den Hautprodukten, die nicht mazeriert sind, vorkommen. Dasselbe Mißverhältnis zwischen Giemsa-Ausstrichen und Silberschnitten findet man auch bei Hautschnitten.

Schmorl glaubte diesen heiklen Punkt fortschaffen zu können durch den Nachweis nach Giemsa gefärbter Spirochäten im Schnitt. Aber seine Präparate zeigen, wie er selbst angibt, absolut keine kongruenten Verhältnisse weder in Zahl noch Form der Spirochäten. Zugleich betont Schmorl auch, daß Verwechslungen zwischen Spirochäten und ähnlich aussehenden Fasern auch bei der Giemsa-Färbung nicht ausgeschlossen werden.

Wir sehen also, daß die Silbermethode zu einem exakten Nachweis der Spirochäten ungeeignet ist. In der Tat ist sie auch ganz überflüssig, denn zum Nachweis von Spirochäten ist ihre Färbung nach Giemsa im Ausstriche vollständig ausreichend und genügend zuverlässig. Nur mit dieser Methode darf also bei Erörterung der Frage, ob die Spirochäten etwas mit der Aetiologie der Syphilis zu tun haben, gerechnet werden, soweit es sich um eine exakte wissenschaftliche Betrachtungsweise handeln soll.

Fällt die Silberspirochäte als sicher diagnostizierbares Gebilde bei der ätiologischen Untersuchung der Syphilis fort, so ist damit auch der Hauptgrund für die Annahme der Erregernatur der Pallida geschwunden. Gerade die Massenhaftigkeit der Silber-Spirochäten hatte den meisten Forschern als Hauptargument ihrer ätiologischen Bedeutung gegolten (Flügge und Benda u. A.).

Nachdem wir also gesehen haben, daß eine spezifische morphologische Charakteristik der *Spirochaete pallida* nicht zukommt, sondern daß nach Mühlens, Prowazek, Neisser, Bertarelli, Stern u. A. in echt syphilitischen Organen auch Uebergangsformen zum Refringens-Typus beobachtet werden, erhebt sich nun die weitere Frage, ob und an welchen Stellen, außer an syphilitischen, solche Bakterien, die mit der Pallida verwechselt werden können, beobachtet werden. In der Literatur findet man eine ziemlich große Anzahl von solchen Befunden, die offenbar eine noch viel größere sein würde, wenn der Nachweis von Pallidaformen an nicht syphilitischen Stellen mit nur annähernd so großem Interesse betrieben worden wäre, wie die Pallida-Suche bei Syphilis. Die Pallida-Formen wurden nachgewiesen von Kiolemenoglou und v. Cube bei Balanitis, Absceß der Bartolinischen Drüse, bei skrofulodermatischen Abscessen und jauchenden Carcinomen, von Scholtz bei spitzem Kondylom, von Ganzer in hohlen Zähnen, von Krienitz bei Carcinom. Neisser fand in Ulcerationen und nekrotisierenden Geweben, wo von Syphilis nicht die Rede war, Gebilde, die weder durch ihre Form, noch durch ihre Färbbarkeit von der in syphilitischem Gewebe gefundenen *Spirochaete pallida* zu unterscheiden waren. Auch bei ulceröser Stomatitis und bei Peniscarcinom sah er dieselben Formen. Er meint daher, daß zur Erkennung der Syphilis eine „individuelle Sehfähigkeit eine geradezu instinktive

Diagnose ermöglichen müsse“. Bertarelli sah *Pallida*-Formen im Rachen, im Auswurf von Herzkranken, bei Bronchitis, ohne daß Syphilis vorhanden gewesen wäre. Gegen manche dieser Befunde ist allerdings von Spirochätenanhängern der Einwand erhoben, daß die Färbung nicht ganz die richtige Nuance aufgewiesen habe. Doch darf man, selbst die Richtigkeit dieser Beobachtung zugegeben, diesem Punkte eine größere Bedeutung nicht beimessen, da kleine Abweichungen des Farbtones bei Giemsa-Färbung auch bei der sogenannten echten *Pallida* beobachtet werden. Bei Carcinom scheint die *Pallida* recht häufig gefunden zu werden, denn auch Eitner beobachtete, daß er solche Carcinom-spirochäten im Dunkelfeld von der echten *Pallida* absolut nicht unterscheiden konnte. Borrel sah bei Mäusecarcinom Spirochäten, die sehr fein und mit ausgeprägten Windungen versehen waren. Auch Gaylord und Calcins sahen bei Mäusecarcinom Spirochäten. Robertson und Young fanden mit Silber bei Carcinom Spiralen, deren Spirochäten-natur sie aber in Zweifel lassen. Auch Mühlens sah bei Carcinom Spirochäten, deren manche nach seiner eigenen Aussage von den in syphilitischen Organen zu findenden atypischen Formen der *Pallida* kaum oder gar nicht zu unterscheiden waren. Von einer *Pallida*-Form bei *Framboesia tropica* berichten Castellani, Halberstädter, Schüffner, v. Prowazek und Mayer. Castellani und Mayer halten sie für zarter als die Syphilispallida, v. Prowazek wiederum für dicker, ein Zeichen, daß absolut genaue morphologische Charakteristika sich hier ebensowenig aufrecht erhalten lassen wie bei der *Pallida* der Syphilis. Aus dem Vorkommen in Hautprodukten bei Frambösie hat man auf eine ätiologische Rolle der Spirochäten geschlossen, besonders mit Rücksicht auf die verwandte Natur dieser Erkrankung mit Syphilis, obgleich die Untersuchung der inneren hochinfektiösen Organe der frambösiegeimpften Affen keine Spirochäten aufwies. Konsequenterweise hätte man auf Grund der vielen Beobachtungen der *Pallida*-Formen bei Carcinom auch die Carcinomentstehung auf Spirochäten zurückführen müssen. Dies ist aber aus naheliegenden Gründen nicht geschehen. Ebensowenig hat man die bei der tuberkulösen Frambösie in der Haut gefundenen Spirochäten als Erreger bezeichnet (Pick). Dreyer beschrieb kürzlich das Vorkommen von Spirochaete pallida bei Lichen ruber acuminatus bei einer nicht im geringsten syphilisverdächtigen Person. Aber als unbedingter Anhänger der *Pallida* verfällt er dem bekannten falschen Zirkelschluß, indem er die unter Beweis stehende Erregernatur der *Pallida* als bewiesen ansieht. „Trotz der täuschenden Ähnlichkeit des Exanthems mit Lichen ruber-Formen — namentlich gleichen die Efflorescenzen an den Nates denen des Lichen ruber acuminatus völlig — trotz des starken Juckens, der negativen Anamnese und der mangelnden anderweitigen Symptome sowie der Anordnung mußte die Diagnose auf einen Lichen syphiliticus gestellt werden, da sich im Gewebssaft nach Abkratzung der Schuppen neben einer Anzahl Spir. refringens deutliche typische Pallidae fanden.“ Hierher gehört auch folgender Fall: In einem Darmgeschwür eines Kindes, das 5 Tage lebte, fand Fränkel Spir. pallidae. Der anatomische Prozeß hatte als solcher nichts für Syphilis Spezifisches, wie ausdrücklich betont wird, auch die Anamnese ergab nichts Belastendes, nur an den Rippen fanden sich osteochondritische Herde, die für verdächtig gehalten wurden. Aber der gelungene Nachweis der Spir. pallidae in den Krankheitsgeweben schien „von ausschlaggebender

Bedeutung“ zu sein für die Auffassung der geschilderten Erkrankung als eine syphilitische.

Daß der Nachweis der Pallida im Penisgeschwür nichtsyphilitischer Art zu falschen Diagnosestellungen führen konnte, zeigte Finger, der auf einem solchen Geschwür Pallida-Spirochäten beobachten konnte, ohne daß Syphilis vorlag. Auch Jadassohn warnt davor, die *Spir. pallida* zur Diagnose zu benutzen. Allerdings will Stern¹⁾, der zweimal bei „klinisch als *Ulcus molle* imponierenden Geschwüren“ Spirochäten nachweisen konnte, die „alle Charaktere der Pallida“ hatten, alle diejenigen nichtsyphilitischen Personen, die Pallida-Spirochäten an nichtsyphilitischen Stellen aufweisen, z. B. auch solche mit spitzen Kondylomen oder *Ulcus molle*, als „Spirochätenträger“ bezeichnen, die nach Analogie anderer Bakterienerkrankungen, ohne selbst syphilitisch zu sein, das Syphilisgift selbst mit sich herumtragen. Solche Anschauung ist meiner Ansicht nach durchaus konsequent auf dem strikten Spirochätenglauben aufgebaut und setzt mit ihren weitgehenden Folgerungen die ganze Spirochätentheorie ins rechte Licht. Kürzlich haben noch Pröscher und White in pseudoleukämischen Drüsen Pallida-ähnliche Spirochäten gesehen und legen diesen gegenüber anderen in solchen Produkten gesehenen Bakterien besondere Bedeutung bei, weil die Spirochäten ja Protozoen sein sollten.

Die *Spir. pallida* scheint demnach ein ziemlich ubiquitärer Saprophyt zu sein, der mit besonderer Vorliebe die ihm zugänglichen Produkte der syphilitischen und carcinomatösen Erkrankung als Wohnsitz auswählt. Weshalb hat man nun eine besondere Berechtigung, sie gerade als den Erreger der Syphilis zu bezeichnen? Daß sie in einem besonders hohen Prozentsatz von syphilitischen Hautprodukten gefunden wird, dürfte, nachdem wir das ubiquitäre Vorkommen von solchen Saprophyten kennen gelernt haben, doch nichts bedeuten. Finden wir doch in denselben Produkten regelmäßig auch andere Bakterien verschiedenster Art, z. B. Lustgarten-Bacillen, Birchsche Kokken und noch sehr viel andere, ohne daß man ihnen heute noch besondere Bedeutung beimißt. Auch der Nachweis in den nächstgelegenen Drüsen kann den Ausschlag in der ätiologischen Bewertung nicht geben. Solche Drüsen enthalten, wie wir mikroskopisch oder jedenfalls immer durch das Kulturverfahren nachweisen können, regelmäßig auch andere Bakterien. Selbst wenn die Spirochäten regelmäßig an diesen beiden Stellen vorkommen würden, dürfte es uns nicht bestimmen, sie für die Erreger zu halten. Tatsächlich aber geht aus der Literatur hervor, daß in einer sehr großen Anzahl von Fällen weder bei Hautaffekten noch in den dazu gehörigen Drüsen Pallida-Formen trotz angestrengtesten Suchens sich auffinden ließen. So gibt Neisser an, daß bei ganz sicheren Fällen von Syphilis die Pallida nicht selten vermißt wurde. Heller und Rabinowitsch konstatierten nur in etwa 40 Proz. der Fälle das Vorkommen der Pallida, Török und Schattelesz fanden nur bei

1) Stern kommt zu folgender Schlußfolgerung: „Es kann nicht mehr zweifelhaft sein, daß der positive Nachweis von Spirochäten für die Syphilisnatur eines Geschwürs spricht, wenn die klinischen Erscheinungen den Befund bestätigen“ (von mir gesperrt). Stern meint weiter, auf Grund des Pallida-Nachweises eine Allgemeinkur einzuleiten, sei man nicht berechtigt.

Auch Emile Sergent kommt zu einem ähnlichen Urteil betr. die diagnostische Bedeutung der Pallida „... je ne crois pas qu'elle puisse être de quelque utilité dans le diagnostic différentiel de la syphilis et de la tuberculose“.

40 Proz. der Luesfälle die *Pallida*, in Initialsklerosen nur in 18,2 Proz., bei breiten Kondylomen aber in 78,5 Proz. Bertarelli und Volpino fanden unter 42 Fällen von primärer und sekundärer Hautsyphilis nur nur 26mal, dagegen bei 6 Drüsen niemals *Pallida*-Formen. In letzter Zeit dagegen wollen Mühlens und v. Prowazek in 100 Proz. der syphilitischen Hautaffektionen die *Pallida* nachgewiesen haben. Jedoch ist dabei zu berücksichtigen, daß sie den von ihnen vor nicht allzulanger Zeit mit genau zahlenmäßig festgelegten Windungs- und Höhenverhältnissen der Kurven fixierten *Pallida*-Typus aufgegeben und somit die unterscheidenden Merkmale der sich überall einmischenden saprophytischen Refringens wieder fallen gelassen haben. Schuster konnte bei der Untersuchung von 6 Drüsenfällen niemals die *Pallida* zu Gesicht bekommen, er fand sie im ganzen nur in $\frac{2}{3}$ aller untersuchten Syphilisfälle. Auch Eitner vermißte sie in Drüsen, ebenso wie auch in Primäraffekten mehrfach. Arning berichtete kürzlich, bei sicherer Lues die *Pallida* nicht gesehen zu haben: bei drei Fällen von gummösen Ulcerationen, bei einemluetischen Schanker des Sulcus coronarius, im Eiter eines Ulcus molle bei frischer Lues, bei einem sicheren Fall bei Ulcus mixtum mit Roseola und Drüsen, bei einem 8-wöchigen Kinde mit hereditärer Syphilis weder intra vitam im Ausstrich von Coryza und Papeln noch post mortem in den inneren Organen nach der Silbermethode und schließlich bei einer Handpapel von sicherer Lues. Auch Stern vermißte die *Pallida* bei Lues nicht selten. In einer zweiten Arbeit berichtet Arning mit Klein von vergeblichem Suchen nach der *Pallida* in sämtlichen untersuchten Fällen von 5 Drüsenpunktionen, von 4 Tertiärprodukten und von 3 malignen Frühformen. Außerdem wurde die *Pallida* in einer Reihe von 19 Drüsenpunktionen nur ein einziges Mal gefunden. Diese kurze Zusammenstellung, die nicht erschöpfend sein soll, zeigt, wie unzuverlässig der Nachweis der *Pallida* sich herausstellt.

Das Vorkommen der *Pallida* in den inneren Organen bei Syphilis würde eine größere Bedeutung haben, vorausgesetzt, daß es sich um solche Fälle handelte, bei denen eine Saprophyteninvasion ausgeschlossen ist. Daß bei sekundär syphilitischen Menschen, deren Blut auf Grund zahlreicher Versuche als sicher infektiös anzusehen ist, die *Pallida* einwandsfrei nicht nachgewiesen werden konnte, darf als feststehend betrachtet werden, nachdem die in der ersten Zeit auftauchenden Berichte von solchen Befunden (Reckzeh, Nöggerath und Stähelin) sich später nicht mehr bestätigen ließen. In den Organen an Syphilis maligna zu Grunde gegangener Menschen, in denen man a priori die größtmöglichste Ansammlung von Spirochäten hätte voraussetzen müssen, fand man sie häufig nicht (Buschke und Nobl). Nobl fand in einem solchen Falle auch nicht einmal in den Hautprodukten *Pallida*-Spirochäten. Tiedemann und Nambu vermißten die *Spir. pallida* bei Syphilis der Meningen. Man sucht sich im Kreise der Spirochätenanhänger solchen fatalen Situationen gegenüber mit hypothetischen, unbekannten Entwicklungsformen der *Pallida* zu helfen, wobei allerdings wiederum die oben als unhaltbar erwiesene Protozoennatur der Spirochäten in die Bresche treten muß.

Großes Gewicht hat man, doch mit Unrecht, auf den Nachweis der Spirochäten in den inneren Organen von syphilitischen Föten und Neugeborenen gelegt. Ich selbst habe diesem Punkt mein ganz besonderes Interesse zugewendet und gefunden, daß man einem verhängnisvollen

Irrtum verfällt, wenn man diese Objekte gerade als klassische Fundorte des Syphiliserregers ansieht. Ich habe auf Grund der Untersuchung von über 20 solcher Neugeborenen und Föten gefunden, daß mit verschwindend geringen Ausnahmen — ich habe bisher nur zwei solche ganz sicheren Fälle von Foetus sanguinolentus syphiliticus — sämtliche Föten und die bald nach der Geburt gestorbenen Neugeborenen in ihren inneren Organen größere oder geringere Mengen von Bakterien beherbergen. Gelingt der Nachweis mikroskopisch nicht, so gibt die Kultur immer noch positive Resultate. Es finden sich hier alle möglichen Arten von Bakterien, Kokken fast ganz regelmäßig, dann häufig Coli-ähnliche Bacillen, manchmal Hefe- und andere Pilze, ferner Spirochäten von strengem Pallida- oder deutlichem Refringens-Charakter. Mrazek machte schon vor vielen Jahren auf den Bakterienreichtum der inneren Organe der syphilitischen Neugeborenen aufmerksam und anfangs 1905, als man auf den Spirochätennachweis bei syphilitischen Föten noch nicht so großes Gewicht legte, hatte mein Assistent Jancke festgestellt, daß 10 von ihm untersuchte mazerierte Föten mit Bakterien verseucht waren. Diese Feststellung ist um so wertvoller, als Jancke, an der geburtshilflichen Abteilung der Bumm-schen Klinik arbeitend, das Material direkt nach der Geburt in Untersuchung nehmen, also extrauterine Invasion ausschließen konnte. Die syphilitischen Kinder, die noch lebend geboren werden, sterben gewöhnlich bald nach der Geburt in längerer Agone, in der die Regeneration der Alexine aufhört (Trommsdorf), ohne so dem Eindringen der Haut- und Darmbakterien Widerstand leisten zu können. Auch wenn sie älter werden und an Sepsis zu Grunde gehen, sind sie sowohl lebend als auch besonders nach dem Tode häufig mit Bakterien verseucht. Ueber das Vorkommen von Darmspirochäten bei Menschen und Tieren siehe Escherich, Giaksa und Lustig, Gruber. Ich selbst fand bei Pavianen im Dickdarm nicht selten Spirochäten, die Pallida-ähnlich waren¹⁾. Solche Darmbakterien dringen bei neugeborenen absterbenden Kindern um so leichter in die Blutbahn ein, als die gewöhnlich geringe Eigenwärme dieser Kinder den Mangel der Reagierfähigkeit gegen Bakterieninvasion begünstigt (Würtz). Nach dem Tode findet man, selbst wenn die Sektion nur wenige Stunden post exitum vorgenommen wird, oft eine so außergewöhnlich reiche Flora von Bakterien, daß man geradezu überrascht ist von der Menge der Arten und der Gesamtzahl. Da manche dieser Bakterien sich schwerer färben, eignet sich zum Nachweise am besten eine kräftige Einwirkung mit alkalischem Methylenblau. Mit Giemsa-Farbstoff bleibt eine große Anzahl unbemerkt! Das ist vielleicht der Grund, weshalb einige Autoren, z. B. Mühlens, von sonst bakterienfreien Kinderleichen berichten, die sie speziell auf Spirochäten untersuchten. Uebrigens gibt es bakterienfreie Menschenleichen überhaupt nicht (Dehmel). Man wird also billigerweise davon Abstand nehmen müssen, aus dem Spirochätennachweis in solchen syphilitischen Kinderleichen irgend welche Schlüsse auf die Erregernatur der Pallida zu machen. Auch Neisser spricht dieselbe Ansicht aus, was ganz unbeachtet geblieben zu sein scheint. In der D. med. Wochenschr. 1906. Heft 1 sagt er ausdrücklich, daß hereditäre Fälle zur Untersuchung nicht

1) Die Bakteriologie der letzten zwei Jahrzehnte hat sich sehr wenig mit dieser Bakteriengruppe beschäftigt. So ist es erklärlich, daß man ihr ubiquitäres Vorkommen vergessen hatte und beim Auftreten der Schaudinnachen Entdeckung einem Novum gegenüberzustehen glaubte.

geeignet seien, da hier auch andere Bakterien, z. B. Streptokokken, Pneumokokken etc. das gesamte Gewebe durchsetzen können. Soll der Befund der Spirochätenbakterien in den inneren Organen geprüft werden, so muß man sich auf solche Fälle beschränken, bei denen eine Bakterieninvasion möglichst ausgeschlossen ist. Die Leichen erwachsener Syphilitischer versagten in dieser Beziehung, wie wir oben sahen. Selbst maligne Syphilis zeigte sich meist spirochätenfrei. Das geeignetste Objekt zu solchen Untersuchungen bildet sicher das Impftier, besonders der Affe. Hier sind die inneren Organe hochgradig infektiös. Hier können wir experimentell willkürlich den Tod plötzlich hervorrufen in einem Stadium der Krankheit, in dem die Gewebsenergie noch nicht so geschwächt ist, um sekundären Bakterienansiedlungen zu verfallen. Hier können wir sofort nach dem Tode noch lebend warmes Material mit Ausschluß aller Fehlerquellen untersuchen. Das hat auch Neisser erkannt, und seine Versuche, gerade hier die *Pallida* nachzuweisen, sind wohl begründet. Wie waren nun Neissers Erfolge, die bei einem außergewöhnlich großen Material von Affen vorgenommen wurden? Nach seiner ersten Expedition berichtet er, daß die Untersuchungen vollständig negativ ausfielen. Er hält es aber für möglich, daß es ihm und seinen damaligen Assistenten an Übung im Nachweise der *Pallida* gefehlt habe. Bei seiner zweiten Expedition nach Java begleitete ihn v. Pro-wazek, ein Assistent Schaudinns, und was war das Resultat? Der ganze Bericht über diese hochwichtige Enquête ist in folgenden wenigen Worten zusammengefaßt: „In Milzausstrichen wurde einmal eine kurze, nicht sehr deutliche Spirochäte gesehen“. Die einzelnen noch außerdem in Schnitten gesehenen Silberspirochäten können wir nach den obigen Ausführungen unberücksichtigt lassen. Es bleibt also nur eine einzige Giemsa-Spirochäte übrig, und diese ist noch dazu undeutlich, also auch nicht einmal einwandfrei. Die Affen waren also, wie man wohl annehmen darf, frei von *Spir. pallida*, während dagegen Neisser schon früher von dem Vorkommen von „sicheren *Spir. refringentes*“ in den Drüsen und im Kreislauf geimpfter Affen berichtet hatte.

Andere Autoren, und es ist noch eine große Anzahl von Forschern, denen eine größere Menge von Affen zu Gebote stand, sagen über diesen wichtigen Punkt nichts, obgleich man wohl annehmen darf, daß massenhaft Untersuchungen auf *Pallida* unternommen worden sind. Bertarelli verspricht in seiner ersten Arbeit, auf seine Spirochätenuntersuchungen in den inneren Organen der Affen einzugehen, wenn die Untersuchungen beendet sein würden, schweigt sich aber über diesen wichtigen Punkt in seinen späteren zahlreichen Publikationen ganz aus. Ebenso Hoffmann, Bab, Finger, Mühlens, die sämtlich von Affenimpfungen berichten, obgleich sie mit einigen regelmäßigen Nachweisen von *Pallida*-Spirochäten an dieser Stelle einen gewaltigen Trumpf in der Hand hätten. Nur Levaditi gibt an, weder in den regionären Lymphdrüsen noch in den inneren Organen Spirochäten der geimpften Affen gefunden zu haben, ebenso erklärt Kraus die inneren Organe für spirochätenfrei. Die Angaben von Schaudinn und Zabolotny beziehen sich auf Silberspiralen, kommen also nicht ernstlich in Betracht. Kürzlich berichtet Grünbaum, daß er in den Organen eines syphilitischen Schimpansen vergeblich nach Spirochäten gesucht habe. Selbstverständlich habe ich bei fast sämtlichen von mir untersuchten Affen — es sind mehr als hundert — auf Spirochäten in den inneren Organen gefahndet. Ganz besonders genau wurde bei solchen Tieren untersucht, bei denen Ver-

Änderungen der Milz und Leber auf eine tiefer eingreifende Erkrankung schließen ließen. Die Untersuchungen wurden sowohl mit Giemsa als mit Dunkelfeld vorgenommen. Das Resultat war vollständig negativ. Ausnahmsweise wurden Bakterien anderer Art durch Kultur bei solchen Tieren gefunden, die sehr schwächlich und leidend waren. Hier mögen die bei Affen stets vorhandenen Hautverletzungen bei herabgesetzter Widerstandskraft die Eingangspforte gebildet haben. Tiere, die in einem Stadium getötet wurden, in dem von besonderer Schwäche nichts zu bemerken war, zeigten sich bei gründlichster Untersuchung vollkommen bakterienfrei.

Das Resultat der vorhergehenden Untersuchung ist also folgendes: Die *Spir. pallida* ist ein Saprophyt, der bei Syphilis nur an solchen Stellen gefunden wird, die einer Sekundärinvasion besonders ausgesetzt sind. Da sie aber in den inneren, nicht septischen Organen fehlt, hat ihre Anwesenheit nur dieselbe Bedeutung wie etwa eine Sekundärinfektion mit Kokken bei Scharlach oder wie mit den Bacillen bei Schweinepest, von welchen letztere, da sie die drei Kochschen Forderungen erfüllte, 15 Jahre allgemein als die Erreger galten, bis sie kürzlich mittels des Filtrerversuches als Begleiter des Erregers erkannt wurden (Ostertag). Auch mit den Diphtheroidbacillen und Streptothricheen, die bei Lepra mit einer gewissen Regelmäßigkeit als Bakterienassoziation in den inneren Organen gefunden werden (Babes), können sie in ihrer Bedeutung nicht konkurrieren. Ebenso wenig kommt der *Pallida* dieselbe Bedeutung zu wie etwa dem Lustgartenschen *Bacillus*, denn dieser wurde von Dauterle, der sich um den Lustgarten-*Bacillus* nicht geringere Verdienste als für die *Spir. pallida* erworben hat, im Blute sekundär-syphilitischer Menschen 7 mal nachgewiesen! Daß dem Spirochätennachweis so große Beachtung geschenkt wurde, erklärt sich aus dem bei vielen Medizinern anscheinend bestehenden großen Autoritätsglauben, der schon bei einer ähnlichen Veranlassung auf Grund der Weigert'schen Empfehlung dem Lustgarten-*Bacillus* zu jahrelanger Anerkennung verholfen hatte. Nachdem nunmehr durch die Arbeiten von Novy und Mc Neal und Gebrüder Sergent erwiesen ist, daß Schaudinn in seinen Hauptarbeiten von falschen Voraussetzungen ausging und zu irrthümlichen Folgerungen gelangte, dürfte allmählich wohl auch die Entdeckung der *Pallida* mit kritischerem Auge angesehen werden. Wie groß übrigens die autoritative Suggestionwirkung gewesen ist, mag auch erhellen aus den sofort an verschiedenen Stellen aufgenommenen Versuchen, nunmehr auch bei anderen Erkrankungen mit unbekannten Erregern, deren Charakter aber ebenso wenig wie die Syphilis mit Spirillosen Aehnlichkeit zeigte, Spirochäten als Erreger nachzuweisen: Vaccine — Bonhoff, Pocken — Sakurane, Scharlach, Brustseuche — Baruchello, Pricolo, Joest.

Während eine große Zahl von menschlichen und tierischen Infektionskrankheiten mit unbekannten Erregern für die Wissenschaft und die ätiologischen Beziehungen ganz rätselhaft blieb, wurden seit einigen Jahren immer mehr Merkmale und gemeinsame Eigenschaften dieser Krankheiten bekannt, die immer deutlicher eine bestimmte Gruppenbildung hervortreten ließen. Diese zu einer mehr oder minder eng zusammenhängenden Gruppe gehörenden Seuchen zeichnen sich zunächst durch die Art ihrer Uebertragung aus. Sie sind rein contagiös, Zwischenwirte spielen bei ihnen keine Rolle. Einige zeichnen sich durch ziem-

lich regelmäßige Uebertragung auf die Frucht aus, z. B. Masern (20 Fälle Jürgensen), Scharlach (Bohn, Fürbringer, Murchison, Thomas, s. Jürgensen). Bei Syphilis ist diese Uebertragung sehr häufig. Wir rechnen zu dieser großen Gruppe die akuten Exantheme, Pocken, Masern, Scharlach und ferner die Syphilis, die man schon seit längerer Zeit wegen verschiedener Analogieen zu den akuten Exanthemen stellte. Für diese Auffassung der Syphilis war maßgebend die Ähnlichkeit des Ausschlages (Bäumler, Gerhardt, Fürbringer) und das häufig beobachtete Initialfieber. Mag auch letzteres nicht so häufig wie bei den übrigen akuten Exanthemen beobachtet werden, so haben doch die Untersuchungen von Günz und Bäumler ergeben, daß bei unbehandelten Fällen ziemlich häufig zwischen dem 50.—65. Tage ein charakteristisches Fieber eintrat, das in Parallele mit dem Eruptionsfieber von Pocken und Masern gestellt wurde. Auch die geringe Empfänglichkeit der Säuglinge für Infektion mit Syphilis (Neisser), Pocken (Wolff), Masern und Scharlach ist eine gemeinsame Eigenschaft. Ferner gehören in die Nähe dieser Gruppe die Vogelpocken (Löwenthal, Reischauer), wahrscheinlich auch Lyssa, Hühnerpest, Peripneumonie, Maul- und Klauenseuche, vielleicht auch Granulose u. a.

Bei manchen dieser Erkrankungen ist als eine sie von den bakteriellen absondernde Eigenschaft die Filtrierbarkeit des Erregers festgestellt. Zuerst bei der Maul- und Klauenseuche, dann bei Lyssa, Peripneumonie und Hühnerpest, unter den akuten Exanthemen bis jetzt bei den Pocken bezw. Vaccine (Siegel, Negri, Carini, Casagrandi, Remlinger). Bei den Pocken war es lange vergeblich probiert worden, mit Filtrat zu impfen, bis es sich herausstellte, daß diese Methode nur unter besonderen Bedingungen gelang. Ich habe das mit sehr hohem Druck hergestellte Filtrat von Organsaft positive Impfungen hervorbringen sehen, während Negri feststellte, daß erst längere Mazeration der Lymphe den Versuch ermöglicht. Bei Syphilis liegen die Versuchsbedingungen für eine Filtratimpfung besonders ungünstig, weil erstens das Material sehr bald nach seiner Entnahme aus dem lebenden Körper in seiner Virulenz stark abgeschwächt wird, und zweitens, weil die Empfänglichkeit selbst der empfindlichsten Impftiere fast immer nur größeren Mengen des Impfstoffes gegenüber sich zeigt. Trotz dieser Schwierigkeiten gelang es in meinem Laboratorium in einer Reihe von 5 Versuchen einmal, einen unzweideutigen Impfeffekt zu erzeugen (Jancke).

Bei der ganzen Gruppe dieser Krankheiten werden Bakterien als Begleiter selten vermißt, so Kokken bei Pocken und Scharlach, Bacillen bei Schweinepest, Spirochäten und Bacillen bei Syphilis (Lustgarten, Schaudinn). Mit der Erregung haben diese sekundär eingewanderten Bacillen nichts zu tun. Dagegen sind schon bei einer ganzen Reihe dieser Erkrankungen Gebilde nachgewiesen, die sich trotz heftiger Befehdung immer mehr Anerkennung verschaffen. Zuerst fand Guarnieri bei Vaccine, besonders nach Verimpfung auf das Epithel der Kaninchencornea, besondere Körper (Cytorrhycles vaccinae). Die meisten Autoren (v. Wasielewski, Councilman, Brinkerhoff, Tytzer, Siegel, Negri, Borrel, Bose) halten diese Körper für Parasiten. Die größeren Formen wären dann als Cysten mit einer Hülle anzusehen, in denen die Sporulation vor sich geht. Andere Autoren, wie Hückel, Foà, Prowazek, sehen dagegen diese Formen als Ausscheidungsprodukte der Kerne infizierter Epithelzellen an. Sie nehmen

allerdings dabei an, daß die Erreger innerhalb dieser Ausscheidungsprodukte enthalten sein sollen. Ich habe meinen Standpunkt dieser letzteren Auffassung gegenüber, die ich für nicht begründet halte, an anderer Stelle ausführlich erörtert. Der ganze Streit beruht mehr auf der rein theoretischen Fragestellung: Ist die Hülle Produkt der Wirtszelle oder des Parasiten selbst? Wie die Hülle entsteht, unter dem Mikroskop zu verfolgen, ist nicht möglich. Analogieen dafür, daß ein Parasit seine Cystenhülle vom Wirt bezöge und nicht selbst absondere, gibt es nicht. Man denke an die zum Teil außergewöhnlich dicken Cystenhüllen der Coccidien und Gregarinen. Es ist noch niemand eingefallen, die Cystenhüllen bei diesen Protozoen als nicht vom Parasiten selbst stammend hinzustellen. Auch bei dem *Cytorrhycles Guarnieri* hat man kein Recht, eine Ausnahme zu statuieren. Gegen die Deutung der *Cytorrhycles* als Parasiten führt man auch häufig an, daß sie wegen ihrer Größe unmöglich das Filter passieren könnten, wobei man übersieht, daß ja nicht die größeren sporulierenden Formen, sondern nur die kleinsten jungen Sporen das Filter zu passieren brauchen. Prowazek führt außerdem immer wieder nach dem Vorgange Foàs gegen die Deutung der Guarnierischen Körper als Parasiten an, daß sie nach Behandlung mit Wasser oder Salzlösung in ihrer Form immer mehr oder minder geschädigt, zum Teil sogar unsichtbar gemacht würden, ohne daß die Lymphe ihre Impfbarkeit verlöre. Daher könnten die *Cytorrhycles*-Formen unmöglich als die Erreger bezeichnet werden. Mir erscheint dieser Vorgang durchaus in den Rahmen der Vorstellung zu passen, die wir mit der Cystennatur eines Protozoon verknüpfen. Die Hüllbildung ist doch nichts anderes als ein Schutz gegen bestimmte Schädlichkeiten, bei dem Pockenvirus z. B. besonders gegen die Austrocknung. Die Löslichkeit der Hülle in bestimmten Reagentien ist eine ganz bestimmte biologische Voraussetzung ihrer Infektionsmöglichkeit.

Die Negri-Körper der Hundswut, die man wohl mit Recht ebenfalls als Cysten auffassen darf, sprechen noch viel deutlicher für diese Auffassung als die Guarnieri-Körper, zumeist schon wegen ihrer bedeutenderen Größe. (Vergl. hierzu die besonders gut gelungenen Photogramme Negris in seiner letzten Arbeit.) Auch die Negri-Körper müssen sich genau dieselben Einwendungen gefallen lassen gegen ihre Deutung als Parasiten wie die Guarnieri-Körper, z. B. den des Mißverhältnisses ihrer Größe im Vergleich zur Filtrierbarkeit. Auch die Negri-Körper wurden als Zelldegenerationsprodukte gedeutet (Babes, Schüffner). Zu derselben Gruppe gehörige Gebilde fand man auch bei Scharlach (Mallory), bei Hühnerpest (Klein), bei Vogelpocken und vielleicht auch bei der Granulose (Krüdener). Ich habe vorgeschlagen, die ganze Gruppe *Cytorrhychtidae* zu nennen, indem ich für den Familiennamen den Gattungsnamen der zuerst erforschten Art benutzte, und stellte die Gruppe als eine neue zwischen Sporozoen und Flagellaten zu rangierende auf. Man könnte sie aber auch wegen der Ähnlichkeit ihrer kleinsten Erscheinungsformen mit Bakterien vielleicht auch als eine neue zwischen Protozoen und Bakterien zu stellende Gruppe auffassen. Doch ist die systematische Stellung *cura posterior*.

Daß auch die Syphilis zu dieser Gruppe der *Cytorrhychtiden*-Krankheiten zu rechnen ist, habe ich schon oben begründet mit ihrer großen Verwandtschaft zu den akuten Exanthemen. Drückt sich doch schon in dem englischen und französischen Namen beider Krankheiten — *great pox*, *small pox* — *grande vérole*, *petite vérole* — die Ähnlichkeit aus,

die dem Volksbewußtsein von jeher auffiel. In letzter Zeit hat man auf Grund falscher Analogieschlüsse und der irrtümlichen Deutung sekundär eingewandelter Saprophyten die Syphilis zu den Spirillosen gerechnet. Wir kennen zwar drei menschliche Spirochätenerkrankungen: *Recurrens*, *Tickfieber*, *Columbiafieber* (Blanchard). Aber was hat die Syphilis mit diesen in ihrem Charakter irgendwie gemeinsam? Die Spirillosen wie *Recurrens* sind akute Krankheiten, die häufig mit einem, meistens mit zwei oder drei Fieberanfällen im Laufe von 2—4 Wochen als ganz akute Prozesse ihr Ende finden, während die Syphilis eine über Monate bzw. Jahre mit zyklischen Rezidiven sich hinziehende, chronische Seuche ist. Die Spirillosen werden bei Menschen wie bei Tieren durch Zwischenwirte übertragen, die Syphilis dagegen ist rein kontagiös. Bei den Spirillosen werden im akuten Anfall außerordentlich große Mengen Spirillen im Blute gefunden, bei Syphilis nie. Daß die Spirochäten außerdem keine Protozoen, sondern Bakterien sind, habe ich oben klargelegt. Auch aus diesem Grunde scheiden sie als Erreger rezidivierender, chronischer Krankheitstypen aus. Die Spirochäten, soweit sie Krankheiten verursachen, sind exquisite Blutschmarotzer und gehen nicht ins Gewebe. Die anscheinende Ausnahme der Hühnerspirochäten, die bei Silberbehandlung im Gewebe gesehen werden sollen, beruht auf der oben auseinandergesetzten Täuschung, die die Silberbehandlung zur Folge hat. Die Hühnerspirillose macht häufig Nekrosen, und gerade in diesen liegen die sogenannten „Silberspirochäten“, die übrigens, wie Saling nachwies, ganz anders aussehen als die mit Farbstoff im Schnitt der Blutgefäße nachweisbaren Hühnerspirochäten.

Das von mir *Cytorrhyches luis* genannte Gebilde erkennt man zu bestimmten Zeiten im Blute der Syphilitiker und der geimpften Affen im nativen Präparate, wenn man bei stärkster Vergrößerung stark abblendet und unter Ausschluß aller Hämokonien, deren Natur man vorher im normalen Blute studieren muß, auf Körper achtet, die, mit Eigenbewegung behaftet, sich von den gleich großen Hämokonien durch eine deutliche Innenteilung unterscheiden. Da die Zahl derselben, wenigstens der größeren Formen, die eigentlich nur in Betracht kommen, eine verhältnismäßig geringe ist, muß man häufig sehr lange suchen. Begünstigt wird die im ungefärbten Präparat immerhin schwierige Erkennung der Parasiten, wenn es gelingt, eine größere Form mit Protoplasmafortsatz bzw. Geißel zu finden. Die Blutpräparate, welche am besten aus einem frischen Tropfen Blut bestehen, auf den ohne Zusatzflüssigkeit ein Deckglas gelegt ist, zeigen nach einiger Zeit, gewöhnlich schon nach etwa 10 Minuten, Gerinnungs- und andere Absterbeerscheinungen, und man muß, um einen Parasiten zu Gesicht zu bekommen, häufig eine ganze Reihe von Präparaten durchsuchen. Sicherer, wenn auch wegen der Kleinheit der Gebilde auch da noch schwierig, ist die Erkennung der *Cytorrhychen* im Schnitte von Primäraffekten und Kondylomen, weil ihre Menge dort eine größere ist.

Für Schnitte eignet sich folgende Färbung: Einige Minuten dauernde Vorfärbung mit Delafieldschem Hämatoxylin, Auswaschen mit 1-proz. Salzsäure oder 2—3-proz. Schwefelsäurelösung, Abspülen mit destilliertem Wasser und Nachfärben mit Azur 1:1000, 24 Stunden kalt oder 1 Stunde im Paraffinschrank.

Die Hauptsache ist der richtige Grad der Differenzierung der Schnitte, die übrigens nicht dicker als $2\ \mu$ sein dürfen, mit absolutem Alkohol, die unter dem Mikroskop so lange fortgesetzt wird, bis man

ein klares Bild erhält. Dieses Differenzieren ist wegen der Kleinheit der Objekte, die man nur mit Oelimmersion erkennen kann, sehr umständlich und mißlingt häufig. Statt mit Alkohol kann man auch mit einer schwachen Eosinlösung differenzieren; die Schwierigkeiten der richtigen Grenzbestimmung sind dieselben. Es gehört daher häufig zum Gelingen eines guten Präparates stundenlanges Hin- und Herfärben.

Ausstriche vom Blut kann man in derselben Weise färben wie Schnitte, doch muß man statt der Salzsäure die Schwefelsäure brauchen, da letztere die Blutkörper nicht so stark angreift. Nach dem Aussäuern und längeren Abspülen mit Wasser bringt man die Ausstriche am besten auf $\frac{1}{4}$ Stunde in 1-proz. Eosinlösung und dann ebenso lange in eine 1-proz. Azurlösung. Nun muß man so lange zwischen diesen beiden letzteren sich gegenseitig auswaschenden Farbstoffen hin- und herdifferenzieren, bis die Cytorrhysten zart blau werden, während die roten Blutkörper und deren Zerfallsprodukte und die eosinophilen Körnchen deutlich rot erscheinen.

Zur Geißelfärbung oder vielleicht besser ausgedrückt Färbung der Plasmafortsätze (eine genaue Entscheidung, was richtig ist, läßt sich bei der Kleinheit dieser Gebilde ebensowenig treffen wie bei den Piroplasmen) hat sich in den wenigen Fällen, in denen sie gelungen ist, nur eine sehr stark verdünnte Giemsa-Lösung bewährt, die, täglich gewechselt, dreimal 24 Stunden einwirken muß. Hierbei mißlingen die meisten Präparate, und es muß als ein günstiger Zufall angesehen werden, wenn ein brauchbares Präparat aus der Cuvette hervorgeht. Ueberhaupt kann gar nicht scharf genug darauf hingewiesen werden, wie schwierig ein gutes Gelingen der Präparate ist. Es hängt, wie schon an anderer Stelle gesagt wurde, nicht allein von der richtigen Färbung ab, sondern ganz besonders auch davon, daß man die zur Sichtbarmachung am besten geeignete Phase der Parasitenentwicklung trifft. Hierfür gibt es meines Erachtens nur eine bekannte Analogie. Wer sich eingehend mit der Darstellung des Cytorrhystes Guarnieri beschäftigt hat, wird wissen, daß es immer sehr schwierig, meist aber ganz unmöglich ist, in einem Hautstück von Variolapusteln die Cytorrhystes-Formen, welche doch sicher dort vorhanden sind, deutlich zum Nachweis zu bringen, wenn man nicht gerade das Glück hat, eine Stelle zu finden, in der die Entwicklung noch in einem bestimmten Stadium zu treffen ist. Solche Schwierigkeiten stehen der Bestätigung der Cytorrhysten, abgesehen von anderen Momenten (allgemeine Voreingenommenheit für die *Spirochaete pallida*), natürlich hindernd im Wege.

Die Formen der Cytorrhysten, denen man begegnet, sind folgende. Es finden sich in den Präparaten Gebilde, die am besten durch die Fig. 5 Taf. I dargestellt werden. Die kleinsten sind zweikernig, kokkenähnliche Organismen, die größeren zeigen eine Ansammlung von 4, 8 und 16 solcher Formen, die ich Sporen benannte. Der Durchmesser der größten Formen beträgt etwa $2\ \mu$, der der kleinsten nur etwa $\frac{1}{2}\ \mu$. Bei der Kleinheit des Objektes sind die kleineren Formen weniger gut zu erkennen, man muß sich daher möglichst darauf beschränken, die größeren zu Gesicht zu bringen, deren Auffindung, da sie sich in den Präparaten in verschiedenen, meist spärlichen Mengen finden, häufig große Schwierigkeiten macht. Die größeren Formen haben, um an bekannte Gebilde anzuknüpfen, besonders in den Schnitten eine gewisse Ähnlichkeit mit den Guarnierischen Körpern, nur daß die Hüll-

substanz entschieden weniger ausgebildet ist. Das würde auch dem physiologischen Verhalten mehr entsprechen, indem die Guarnierikörper berechnet sind, den Einflüssen einer starken Eintrocknung stand zu leisten, während bei der Syphilis wegen der sofortigen Uebertragung solch eine Widerstandsfähigkeit nicht in Betracht kommt. Manche Formen haben auch Ähnlichkeit mit Piroplasmen, besonders wenn man die Piroplasmen zum Vergleich nach derselben Methode färbt.

Verwechslungen gut gelungener Cytorrhycles-Formen mit anderen zufälligen Bestandteilen eines Präparates sind wohl nur bei den kleinsten Formen möglich. Man halte sich daher nur an die größeren, deren Auffindung allerdings, da sie seltener sind, häufig sehr zeitraubend ist. Niederschläge von Farbstoffen weichen bei der Differenzierung, Hämokonien nehmen mit Eosinlösung die Farbe der roten Blutkörper an. Solche Dinge scheinen Mühlens und Hartmann für Cytorrhycles gehalten zu haben. Die von Winkler als tingible Kugeln beschriebenen Gebilde haben.

Zur Darstellung der Cytorrhycles-Formen sind nur ganz frische Präparate brauchbar. Die Primäraffekte und Kondylome müssen möglichst noch lebendwarm konserviert werden. Ich ziehe zur Konservierung wegen der besseren späteren Färbbarkeit absoluten Alkohol vor. Ich habe gefunden, daß solche Präparate, wenn sie erst nach mehreren Stunden konserviert werden, zum Aufsuchen der Parasiten nicht mehr brauchbar waren. Es scheint, daß mit der Abnahme der Virulenz auch ein schneller Zerfall der Parasiten parallel geht, etwa wie bei den Naganatrypanosomen. Dasselbe gilt auch von Leichenteilen; Organe von Neugeborenen und Föten kommen zur Untersuchung nur in Betracht, wenn sie sofort nach dem Tode bzw. der Geburt konserviert werden. Die Außerachtlassung dieses Punktes hat mir zuerst sehr viel Mißerfolge gebracht. Zur Untersuchung des Blutes kommen nur in Betracht die ersten Wochen nach der Infektion, am besten die Periode des Exanthems oder die Zeit kurz vorher, bei geimpften Affen etwa die 2.—4. Woche nach der Infektion. Genaue Zahlenangaben lassen sich nicht machen, da das Kreisen im Blut nicht ganz regelmäßig zu sein scheint. Das Auffinden in tertiären Produkten, z. B. im Lebergummi bei Affen, war äußerst schwierig, wahrscheinlich sind die Parasiten in diesen Produkten auch nur in bestimmten Entwicklungszuständen in größerer Menge vorhanden. Doch ist es mir einige Male gelungen, sie auch hier sichtbar zu machen. Die Zahl der Parasiten im Blut ist anscheinend in den meisten Zeiten der Krankheit nur eine sehr geringe. Analoge Verhältnisse finden wir bei den Vogeltrypanosomen, deren Vorhandensein in den meisten Fällen nur durch Kulturversuche sich feststellen läßt (Novy und Mc Neal).

Kulturversuche sind in meinem Laboratorium dauernd unternommen worden, zunächst auf Novy-Mc Nealschen Trypanosomennährböden. Alles ohne Erfolg; dann schien es, als ob in Röhrchen mit sterilem Placentablut ein Wachstum zu beobachten wäre. Jancke, der monatelang solche Kulturen anlegte, glaubte konstatieren zu können, daß eine Anreicherung der Parasiten sich feststellen lasse, auch bei Weiterimpfung von einer Röhre auf die andere, wenn sie innerhalb der ersten 3 Wochen geschah. Er konnte die Cytorrhycles bis zur 8. Generation fortzüchten. Doch ist die Anreicherung immerhin sehr spärlich geblieben. Es kann ja sein, daß die kleinsten Formen in größerer Menge zum Wachstum gekommen sind, während von den größeren nur spärliche Exemplare

nachweisbar waren. Die Verimpfung einer solchen Anreicherung führte unter 5 Versuchen nur einmal zum Ziel, und zwar bei subkutaner Uebertragung großer Mengen, wie ich früher schon beschrieben habe. Die Frage der Kultur auf totem Nährboden ist also jedenfalls noch eine offene.

Die Versuche, in Kollodiumsäckchen den Erreger zu suchen nach dem von Nocard bei Peripneumonie geübten Verfahren, sind bis jetzt nicht gelungen. Allerdings sind von mir auch nur wenige Versuche gemacht worden.

Daß das Virus der Syphilis ebenso wie das der Pocken filtrierbar ist, wurde oben schon erwähnt.

Die Anwesenheit der Erreger im Filtrat ließ sich durch Verimpfung nachweisen. Ausstriche des Filtrates zeigten in den eingetrockneten Tropfen eine Anzahl kleinster punktförmiger Gebilde, die den Eindruck machten, als ob sie Parasiten wären. Doch lagen sie an der Grenze des Sichtbaren, so daß eine überzeugende Auffassung von ihrem Wesen unmöglich war.

Das Virus der Syphilis läßt sich mit Glycerin konservieren, ebenso wie das der Pocken, Lyssa und Hühnerpest. Das wurde zuerst von Metschnikoff und Roux festgestellt. Ich selbst habe ebenfalls gefunden, daß Impfung mit in Glycerin konserviertem Material, wenigstens bei subkutaner Verimpfung größerer Mengen bei Affen und intraokularer Verimpfung bei Kaninchen, noch nach mehreren Tagen möglich war. Es mag hier erwähnt werden, daß die *Spir. pallida*, wie die meisten Bakterien, in Glycerin abgetötet wird, wie Schaudinn, Merk und Eitner nachwiesen. Also schon aus diesen Gründen kann sie als Erreger nicht in Betracht kommen.

Wird kein Glycerin zugesetzt, so geht der Erreger der Syphilis bald zu Grunde, jedenfalls besitzt er nicht annähernd die Resistenz des Pocken-erregers. Nachgewiesen wird dies durch die baldige Abnahme der Virulenz selbst der am hochgradigsten mit Erregern durchsetzten Primäraffekte und Kondylome. Neisser konstatierte, daß sie nach 6 Stunden und ich, daß sie noch nach 8 Stunden virulent bleiben können. Im allgemeinen aber scheint schon gleich nach dem Tode bzw. der Entfernung aus dem lebenden Körper eine Abnahme der Virulenz einzutreten. Hiermit erklärt sich auch die auffällig geringe Anzahl der einigermaßen verbürgten Leicheninfektionen. Wo wirklich eine Ansteckung zu stande kam, dürfte die Sektion sehr bald nach dem Tode vorgenommen sein. Die Literatur (Proksch, Blaschko) gibt darüber keine genaue Auskunft.

Man sieht aus dieser Beschreibung, daß der Nachweis der Cytorrhysten mit sehr großen Schwierigkeiten verbunden ist, so daß die praktische Verwendbarkeit seines Nachweises noch nicht besonders hervortreten kann, zum Teil liegt das auch daran, daß die fast nur auf Nachweis von Spirochäten gerichteten und auf Cytorrhysten nur in negativer Beziehung verwendeten Bemühungen seitens der großen Menge der in Betracht kommenden Forscher bisher eine größere Vervollkommnung der Methode, wie sie nur bei allgemeinerer Teilnahme, bei fortschreitender Uebung im Laufe der Zeit zu erwarten steht, noch ausgeblieben ist. Das wird Sache der Zukunft sein, wenn das Interesse für Spirochäten erschöpft ist, was nach Analogie der so frappant ähnlichen Lustgarten-Aera wohl noch einige Zeit dauern wird. Damit ist die wissenschaftliche Bedeutung der Cytorrhysten nicht in Frage gestellt,

denn wir kennen auch andere Körper, z. B. die erheblich größeren Negri-Körperchen, deren Nachweis mit Ausnahme bestimmter Stellen vorläufig noch nicht gelungen ist. Auch dort setzen die kleinsten Formen der Erforschung vorläufig noch unüberwindliche Schwierigkeiten entgegen, ohne daß man deswegen die Bedeutung der Entdeckung in Frage stellt. Der Nachweis der Negri-Körper im nativen Präparat ist auch nur äußerst selten gelungen.

Von meinen Erfahrungen über Tierimpfungen habe ich in dem ersten Teil dieser Arbeit ausführlich berichtet¹⁾. Bei weiterer Verfolgung dieser Experimente haben sich noch einige weitere Ergebnisse gefunden, auf die hier kurz eingegangen werden soll: Ich hatte zu meinen Versuchen in den letzten Jahren fast ausschließlich Paviane benutzt, trotz ihres hohen Preises. Ich ging von der Ueberlegung aus, daß bei der ohnehin im Verhältnis zur menschlichen Empfänglichkeit abgeschwächten Aufnahmefähigkeit der Affen für Syphilis nur das beste Material bei der Impfung zur Verwendung kommen dürfte, wenn ein Fortschritt gesehen werden sollte. Daß die Paviane unter den nicht-anthropoiden Affen sich ganz besonders auszeichnen, hatte auch Neisser erkannt. Im Gegensatz zu seiner ersten Veröffentlichung, wo er nach der Empfänglichkeit der Haut, mit Ausnahme der der Augen- und Genitalgegend, einen Gegensatz zwischen Anthropoiden und anderen Affen konstruiert, erklärte er später, daß die Paviane auch auf der Bauchhaut für Primäraffekte zugänglich wären, genau wie die Anthropoiden. Ich hatte auch auf eine zweite Ähnlichkeit zwischen Pavianen und Anthropoiden hingewiesen. Die Paviane bekommen nämlich verhältnismäßig häufig auch Sekundärerscheinungen, die bei den Makaken und anderen Nicht-anthropoiden nur selten beobachtet werden. Da ich seit meiner letzten Arbeit mich fast ausschließlich mit Immunisierungsversuchen beschäftigt habe und daher fast nur die Kontrolltiere für die Beobachtung schwererer Erscheinungen in Betracht kamen, habe ich keine Gelegenheit gehabt, so deutliche Sekundärerscheinungen wieder zu sehen wie früher. Vielleicht spielt aber auch ein anderes Moment dabei eine Rolle. Es war im letzten Jahre durchschnittlich ziemlich kalt, und ich habe schon früher

1) Finger und Landsteiner (s. Med. Klin. 1907. No. 31) können sich immer noch nicht mit der Tatsache abfinden, daß die Natur nicht so verfahren will, wie sie es nach den Ergebnissen ihrer Tierimpfungen als Regel aufstellen. Die Kaninchen sollen nach Luesimpfung keine Hauterscheinungen bekommen haben, wie ich sie gelegentlich erzeugte. Ebenso wenig dürfen die „niederer“ Affen — übrigens, wie ich schon früher zeigte, ein durchaus unwissenschaftlicher Ausdruck — Sekundärerscheinungen zur Schau tragen. Nach Fingers Feststellungen hat die Natur einen breiten Graben gezogen zwischen den sogenannten „niederer“ Affen und den Anthropoiden. Auf der einen Seite darf ein Exanthem auftreten, auf der anderen nicht. So wird die Natur belehrt. Ebenso wenig darf eine subkutane Impfung einen Affen infizieren u. s. w. Meine Erfahrungen sind nicht gültig, selbst wenn sie mit Photogrammen und allen möglichen Beweismitteln gestützt werden, die bei einer Behauptung Fingers natürlich ausreichend gewesen wären. Bestätigungen meiner Impferfolge von anderer Seite werden, trotzdem ich sie des öfteren ausführlich zitierte (s. diese Zeitschr. 1906 u. 1907), immer wieder ignoriert, z. B. für Kaninchensekundärerscheinungen — Schucht, für die Möglichkeit der Subkutanimpfung bei Affen und Kaninchen — Neisser, für die Möglichkeit der Sekundärerscheinungen bei sogenannten niederen Affen — Klebs, Martineau, Neumann, Zabolotny, Kraus. Doch ich kann den Widerstand eines Spirochätenanhängers verstehen, der, nachdem die vielgepriesene *Spirochaete pallida* als großer Irrtum erkannt wurde, auf dem Wege der von alters her und ganz besonders in der Geschichte der Syphilis beliebten negativen Beweisführung, mit der auch der große Ricord so viel Unheil anrichtete, einen dogmatischen Irrtum nach dem anderen zu retten sucht.

darauf hingewiesen, daß bei den Affen Sekundärerscheinungen bei der größten Hitze am besten zum Ausdruck kommen, ähnlich wie man ja auch in den Tropen bei Menschen die schwersten Hauterscheinungen der Syphilis beobachtet haben will. Auch bei den verwandten Pocken dient bekanntlich Kälte als Retardationsursache (Nourmay).

In der vorhergehenden Arbeit hatte ich angedeutet und durch Photographie belegt, daß es mir gelungen war, in der Leber eines syphilitischen Pavians Veränderungen zu erzeugen, die als periportale Infiltration aufzufassen und mit ziemlicher Sicherheit wohl auf die

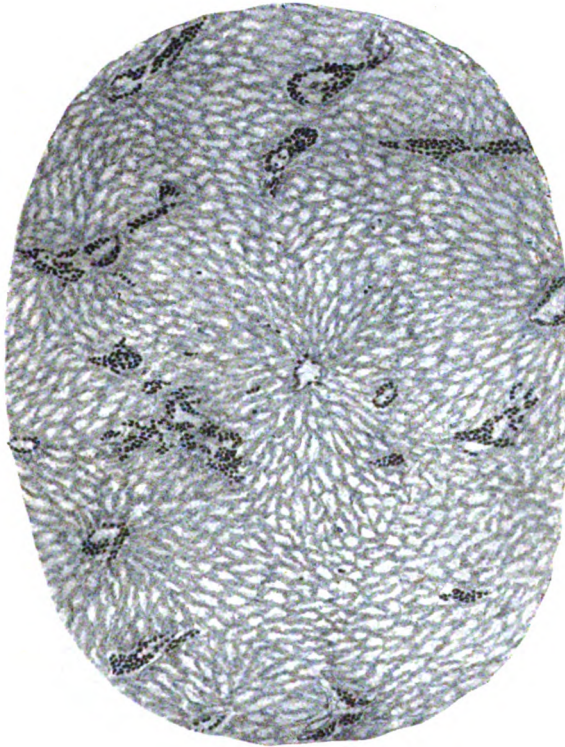


Fig. 1. Affenleberschnitt. Zeichnung. Periportale Infiltration. Vergr. 32.

syphilitische Infektion zurückzuführen waren. Auch hatte ich von Veränderungen der Lunge und der Milz gesprochen, doch legte ich diesen letzteren Befunden weniger Wert bei, da sie nichts gerade für Lues Charakteristisches zeigen wie die Erkrankung der Leber. Die Bedeutung derluetischen Veränderung der inneren Organe, besonders der Leber, liegt auf der Hand. Sind doch diese Veränderungen, histologisch betrachtet, die einzigen, die mit einiger Sicherheit als Syphilis gedeutet werden können, während sowohl die primären als auch sekundären Hauterscheinungen histologisch mehr oder minder zweifelhaft bleiben können. Nunmehr habe ich weitere 2 Fälle von Lebererkrankung bei Pavianen gefunden, die, wie ich glaube, mit ziemlicher Sicherheit auf die syphilitische Impfung zurückzuführen sind. Der eine Affe wurde im Laufe von 5 Monaten zweimal mit Syphilis geimpft, und zwar das erste

Mal an der Augenbraue kutan mit positivem Erfolg, dann 8 Wochen später subkutan mit Knochenmark eines syphilitischen Pavians, der ebenfalls mehrere Monate nach einer positiven Hautimpfung getötet war. Das Knochenmark war vollkommen bakterienfrei, wie mikroskopisch und auf dem Wege der Kultur festgestellt wurde. Bei der Tötung dieses Affen, der durchaus munter erschien, fiel die starke Follikelschwellung der vergrößerten Milz auf. Solche Milzerkrankung fand ich bei einer größeren Reihe von syphilitischen Affen, besonders wenn sie später als

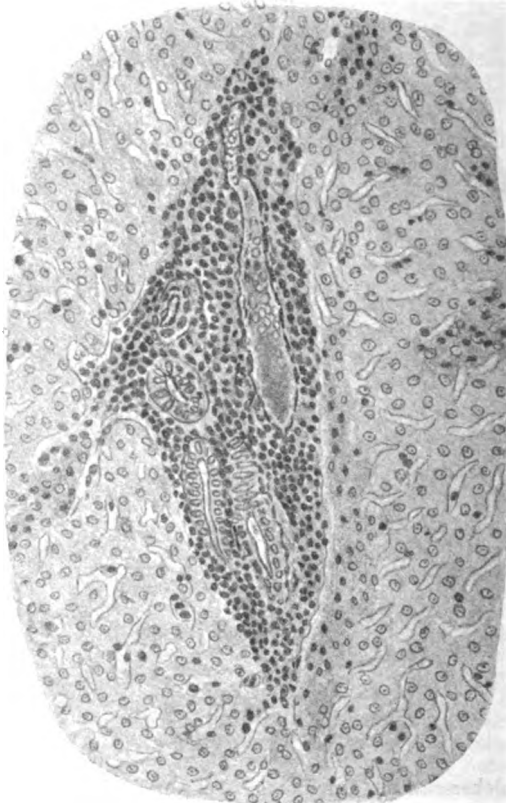


Fig. 2. Affenleberschnitt. Zeichnung. Periportale Infiltration. Vergr. 125.

6 Monate nach der Infektion getötet waren, mit einer gewissen Regelmäßigkeit, doch ist das histologische Bild als charakteristisch für Syphilis wenig zu verwerten, wenn auch in der Literatur mehrfach über Milztumoren bei Syphilis berichtet wird (Wewer, Weil und Proksch). Bei diesem Affen fiel ganz besonders auf, daß die etwas vergrößerte Leber an mehreren Stellen mit dem Zwerchfell verwachsen war und an der Oberfläche eine Reihe von stippchenförmigen, etwa die Größe eines Stecknadelkopfes zeigenden weißgrauen Punkten aufwies. Die Lunge war vollkommen gesund. Nirgends fand sich eine Spur von Tuberkelbacillen. Die mikroskopische Untersuchung ergab folgendes Bild: In der Nähe der Kapsel fand sich eine Reihe von Blutaustritten, wie sie

auf dem Bilde angedeutet sind; die periportale Infiltration ähnelte dem früher beschriebenen Befunde (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XLIII), doch zeichnete sie sich in diesem Fall durch eine erheblich stärkere diffuse Infiltration aus, die an einzelnen Stellen direkt zur Bildung kleiner Gummiknötchen führte. Außerdem fanden sich größere Knötchen, deren Entstehung auf Peri- und Endarteriitis zurückzuführen war. Die Knötchen und ihre Umgebung wurden im Ausstrich und im Schnitt auf Tuberkelbacillen sehr genau untersucht. Es fanden

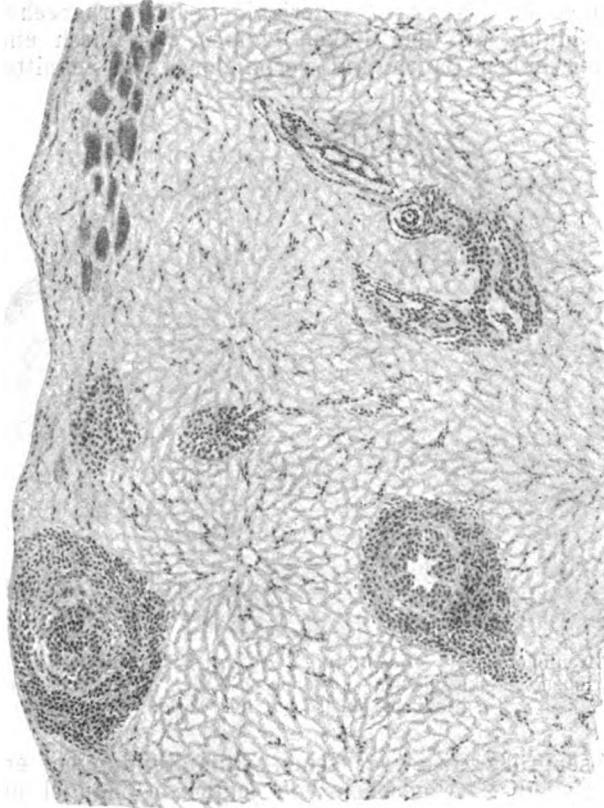


Fig. 3. Affenleberschnitt. Zeichnung. Periportale und diffuse Infiltration und Gummibildung. Vergr. 32.

sich in keinem Falle solche. Auch Riesenzellen fehlten, die bei Lebertuberkulose sehr häufig beobachtet werden. Dagegen traten bei einigen Knötchen kleine Gefäßneubildungen deutlich hervor. Da außerdem weder in den Lungen noch sonst irgendwo etwas Tuberkuloseverdächtiges gesehen wurde, glaube ich diesen Fall als Syphilis der Leber deuten zu müssen. Da seit der Impfung 5 Monate verstrichen waren, dürfte die Zeit der Entwicklung in guter Uebereinstimmung stehen mit den Erfahrungen, die man mit Frühsyphilis der inneren Organe bei Syphilis maligna gemacht hat. Nach Lesser findet man schon nach 3 Monaten, im Durchschnitt nach 4 Monaten, Veränderungen

der inneren Organe, nach Mauriac schon nach $2\frac{1}{2}$ Monaten. Nach Heubner kommt auch im Gehirn Gummientwicklung schon in der Periode der ersten sekundären Symptome vor. Spirochäten fanden sich weder bei Dunkelfeld- noch Giemsa-Beobachtung, wobei ausdrücklich betont werden soll, daß gerade in diesem Fall, wie bei dem folgenden, ganz besonders sorgfältig nachgeforscht wurde.

Bei dem zweiten hochgradig innerlich erkrankten Pavian, der ebenfalls 5 Monate nach einer kutanen positiven Impfung und 4 Monate nach der subkutanen Impfung mit Knochenmark getötet wurde, ähnelte die Verwachsung des Zwerchfelles derjenigen des vorhergehenden Affen. Eine Knotenbildung auf dem linken Lappen war durch einen starken Strang mit der linken Bauchwand verbunden. Die Schnitte durch die

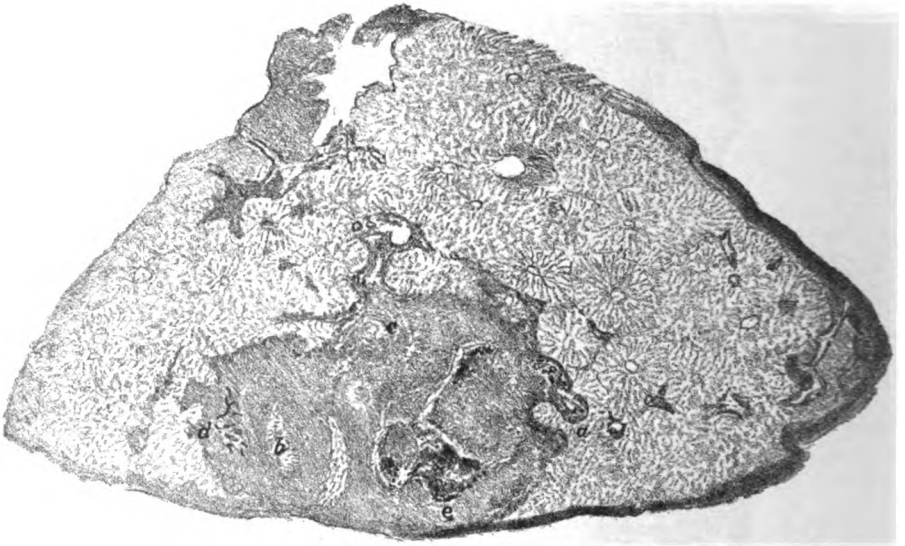


Fig. 4. Affenleberschnitt. Zeichnung. Größere Gummibildung. Vergr. 10. Die eingeschriebenen Buchstaben a—e entsprechen den gleichbezeichneten Photographen 10—14 auf der Tafel.

hier bis Erbsengröße ausgewachsenen Gummibildungen ergaben alle Zeichen der Syphilis. Abgesehen von jeglichem Mangel an Tuberkelbacillen — auch die Lungen waren ganz gesund — fanden sich hier die Charakteristika der Gummiknoten noch deutlicher. Zunächst die landkartenartige Kontur, die als eine Eigentümlichkeit der Gummibildung gilt (s. Fig. 4).

Riesenzellen fehlten ganz. An einzelnen Stellen zeigten sich käsig nekrotische Herde von unregelmäßiger, eigentümlich zeretzter Umgrenzung. In der Umgebung des Knotens fanden sich mehrfache kleine Zellansammlungen, sowohl diffus im Gewebe, als auch besonders um die großen Gefäße herum, die infolge der Peri- und Endarteriitis mehr oder minder deformiert und zum Teil verschlossen waren. Die kleineren Herde haben die Tendenz, sich mit den größeren durch verbindende Zellmassen zu verschmelzen, so daß die Entstehung eines größeren Gummiknotens angebahnt ist.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Zwei neue Nematoden im Darmkanal des Rindes in Deli-Sumatra.

Von A. Vryburg, Tierarzt in Deli-Sumatra.

Mit 5 Tafeln.

Bei Obduktionen von Rindern traf ich öfters im Dünndarm zwei Sorten von Nematoden, welche ich in der mir zur Verfügung stehenden Literatur noch nicht beschrieben fand.

1) Ein Strongyloides:

Bis jetzt wurden Darmstrongyloiden gefunden beim Menschen, Affen, Schaf, Schwein und Kaninchen.

Bei diesen verschiedenen Wirten wurden nur weibliche Exemplare des Wurmes angetroffen. Bei den von mir gefundenen Parasiten, für welche ich den Namen „*Strongyloides bovis*“ vorschlagen möchte, waren stets Weibchen und Männchen zugegen, die ersteren allerdings immer in der Mehrzahl.

Die ausgewachsenen Weibchen sind im Durchschnitt 5 mm lang, die Männchen 4,5 mm. Sie zeigen sich dem unbewaffneten Auge wie feine, weiße, kaum sichtbare Fädchen. Die Oberhaut ist quergeringelt, der Oesophagus mißt beim Männchen ca. $\frac{1}{11}$, beim Weibchen $\frac{1}{17}$ der gesamten Körperlänge.

Die Vulva liegt ungefähr am Anfang des letzten Körperviertels, der Anus kurz vor dem Schwanzende; die Weibchen haben einen kurzen, zugespitzten Schwanz, die Männchen eine Bursa und zwei sehr kurze Spicula.

Maße von einem ausgewachsenen Weibchen: Länge des Wurmes 5,5 mm. Oesophagus 0,317 mm, Schwanz (vom Anus ab gemessen) 0,217 mm, Körperbreite hinter dem Kopf 0,133 mm und hinter dem Oesophagus 0,217, weiter nach hinten 0,333 mm.

Bei einem Männchen von 5,267 mm Länge war der Oesophagus 0,300 mm, Körperbreite hinter dem Kopf 0,083 mm, hinter dem Oesophagus 0,183, weiter 0,233 mm.

Im Darne kommen auch kleinere Exemplare vor mit noch unentwickelten Geschlechtsorganen. Das kleinste, das ich fand, war 0,881 mm lang und 0,019 mm breit. Die Eier werden mit den Faeces entleert; sie sind oval, an den beiden Polen gleichmäßig abgerundet, haben eine dünne, farblose Schale und hellgrau gefärbten Inhalt, welche in frischem Mist gewöhnlich 8—16 Furchungskugeln erkennen lassen.

Länge der Eier im Durchschnitt 0,075, Breite 0,034 mm.

Wenn man Faeces mit Eiern bei 25—30° C aufbewahrt, schlüpfen schon während der ersten Tage die Larven aus.

„Beim *Strongyloides intestinalis* des Menschen (der durch die Untersuchungen von Looss u. A. so genau bekannt ist) schlüpfen die Larven schon im Darm des Wirtes aus und werden im Stuhl vorgefunden. Ein Teil dieser Larven bildet sich dann zu langgestreckten, geschlechtslosen Würmchen aus, mit sehr langem Oesophagus (filariaforme Larven). Die übrigen werden geschlechtliche Individuen — Männchen und Weibchen (*Strongyloides stercoralis*). Die aus den Eiern dieser letzten Weibchen stammenden Larven nehmen alle die geschlechtslose Form an, und

so findet man nach ca. 8 Tagen in den Kulturen nur die filariaformen Larven. Im Darne eines neuen Wirtes (Mensch) angelangt, werden diese wieder zu den Darmstrongyloiden. Es scheint von Aeüßerlichkeiten abzuhängen, welchen Weg die mit dem Mist entleerten Larven einschlagen. Nach den bisherigen Erfahrungen gehen in kälteren Gegenden aus den jungen Larven hauptsächlich die filariaformen hervor, in den Tropen überwiegt die geschlechtliche Entwicklung.“

Bei den *Strongyloides bovis* liegen die Verhältnisse etwas anders, wenigstens hier in den Tropen. In meinen zahlreichen Kulturen sah ich am Anfang nie eine filariaforme Larve; nicht nur in den ersten, sondern auch in den späteren Generationen waren nur geschlechtliche Tiere. Eine Reinkultur von *Strongyloides bovis* in Petri-Schälchen bewahrte ich während 8 Monaten im Laboratorium (bei 25—30° C) auf und sah nur geschlechtliche Formen auftreten. Dasselbe war der Fall in Strongyloiden enthaltenden Rinderfaeces, die ich 4 Monate lang (auf einem Brett) auf einer Wiese liegen ließ (Temperatur 24—28° C).

(Die Eier enthaltenden Faeces, in welchen die Larven kultiviert wurden, stammten in diesen Fällen von Rindern von 2 Jahren oder älteren.)

Mit obengenannter Kultur in Petri-Schälchen wurden ein paar Kälber per os infiziert:

- 1) Ein Kalb, 6 Monate alt, in dessen Mist bei wiederholten Untersuchungen keine Eier gefunden wurden;
- 2) ein 6 Wochen altes Kälbchen; das letztere war seit der Geburt isoliert in einem sauberen Stall, um zufälliger Infektion vorzubeugen.

Das ältere Kalb hatte, ca. 4 Wochen nach der Infektion, im Kot Strongyloiden Eier, aus welchen, beim Aufbewahren im Laboratorium, nur geschlechtliche Würmer ausschlüpften. Auch später waren nur geschlechtliche Tiere zugegen.

Kalb No. 2 hatte schon nach 16 Tagen Eier im Kot; dieser wurde auch im Laboratorium aufbewahrt und enthielt nach 1—2 Tagen außer einer kleinen Zahl geschlechtlicher Strongyloiden eine Menge filariaformer Exemplare. Einige Tage später waren nur filariaforme Larven zu sehen.

Warum in diesem Falle die filariaformen Larven auftraten, während in den anderen Kulturen nur geschlechtliche Würmer waren, weiß ich nicht zu erklären. Der Nährboden war nicht schuld daran, denn als eine kleine Quantität Mist vom Kalb No. 2 sterilisiert und nachher ein wenig Strongyloidenkultur (von 8 Tagen), vom Kalb No. 1 stammend, zugefügt wurde, traten nur geschlechtliche Tierchen auf und keine filariaformen.

Die Strongyloidenlarven gedeihen sehr gut bei unserer Tropentemperatur (25—30° C). Ein gewisser Feuchtigkeitsgrad ist notwendig. Austrocknen tötet bald Eier und Larven, aber auch eine zu große Feuchtigkeit (z. B. Diarrhöefaeces) ist weniger geeignet für die Larvenkultur und bringt viele zum Absterben. Breiartige Faeces in nicht zu dicker Schicht bilden einen sehr guten Nährboden. Für Kulturen ist es zweckmäßig, wenn auch nicht notwendig, der Masse eine kleine Menge Sägemehl zuzufügen. Dadurch wird das Substrat weniger kompakt und der Luftzutritt erleichtert. Unter günstigen Umständen kann man schon

nach 3 Tagen geschlechtsreife Tiere antreffen, deren Zahl sich in den nächstfolgenden Tagen stets vermehrt. (Man trifft die Würmer öfters in Nestern von 12 und mehr Exemplaren beieinander.)

Die eben aus dem Ei geschlüpften Larven sind $300\ \mu$ lang und hinter dem Oesophagus $11\ \mu$ breit, Länge des Oesophagus $\frac{2}{7}$ der Körperlänge (Schwanz mit inbegriffen). Hinterende des Körpers auf der Höhe des Anus eingeknickt, Schwanz kurz und zugespitzt, Mundhöhle deutlich abgegrenzt. Der Oesophagus hat zwei Anschwellungen, der hintere trägt in der Mitte eine sehr ausgesprochene V-förmige Figur, welche sich beim Schluckakt auf- und niederbewegt. Der Darminhalt hat eine graue Farbe. Bei den geschlechtlichen Würmern sieht man bald nach dem Ausschlüpfen der Larven in der Mitte des Körpers, neben dem Darm, einen hellen, ovalen Flecken, die Geschlechtsanlage, und am 4. Tage sind sie nach ca. drei Häutungen zu geschlechtsreifen Tieren ausgewachsen.

Während der Häutungen wird die alte Haut nicht gleich abgeworfen; man trifft öfters Larven (von verschiedenen Größen), welche noch ganz in ihrer alten Haut wie in einer Kapsel eingeschlossen sind. Solche Larven bleiben in 2-proz. Formalin stundenlang am Leben, während die nicht eingekapselten gleich absterben. Die V-Zeichnung im Bulbus oesophagi ist bei den so eingekapselten Würmern weniger deutlich.

Die geschlechtsreifen Tiere verlieren während ihrer letzten Häutung den Larvenschwanz mit der Einknickung am Anus; statt dessen erhalten sie ein kurzes, schwanzartiges Gebilde, das, ähnlich einem Rattenschwanz, aus ihrem hinteren, abgerundeten Körperende entspringt. Jedoch kann man, und zwar hauptsächlich bei der ersten Generation, noch viele geschlechtsreife Würmer antreffen (selbst Weibchen mit Eiern und Larven im Körper), welche noch ihren Larvenschwanz haben. Die Länge des Oesophagus ist bei den älteren Larven und bei den ausgewachsenen Männchen $\frac{2}{7}$ — $\frac{1}{3}$ der Körperlänge, bei den reifen Weibchen ist der Oesophagus kürzer, ca. $\frac{2}{9}$ der Gesamtlänge, und bei Weibchen mit vielen Eiern und Larven im Körper kann die Oesophaguslänge so gering sein, daß sie nur $\frac{1}{8}$ der Körperlänge beträgt. Die Vulva liegt ventral und ungefähr in der Mitte des Wurmes oder etwas mehr nach hinten; ihre Lippen wulsten sich nach außen ein wenig hervor. Der Darmkanal sieht meistens schwarz-marmoriert aus, bei schlechterem Nährboden ist er weniger gefüllt und der Wurm wird dadurch schmaler und blässer. Der Genitaltraktus der älteren Weibchen enthält reichlich Eier in den verschiedenen Stadien der Entwicklung, wovon einzelne schon mit einer sich bewegenden Larve. Bisweilen kann man sogar, hauptsächlich bei der ersten Generation, 1—2 schon ausgeschlüpfte Larven beobachten, welche im mütterlichen Körper sich hin und her bewegen und mitunter erst nach dem Tode der Mutter frei kommen. Die Tiere sind also ovovivipare.

Das Männchen hat 2 kurze Spicula und daneben auf jeder Seite ein paar Papillen, welche man oft nicht sieht, weil sie von den Spicula bedeckt sind. Das Schwanzende des Männchens ist gerade (und nicht gekrümmt, wie das von der *Str. stercoralis* beschrieben wird). Sie krümmen sich nur, wenn sie durch Formalin abgetötet werden. Die Länge der ausgewachsenen Würmer variiert; sie ist geringer bei schlechterem Nährboden. Ferner konnte ich feststellen, daß die erste Zucht (welche von den Eiern der parasitären Würmer stammt) größer ist als die späteren Generationen. Das größte von mir gefundene Weibchen der

ersten Generation maß 1,271 mm und das größte Männchen 1,026 mm. Von den späteren Geschlechtern war das größte Weibchen 0,883 und das kleinste 0,500 mm lang.

Die Eier der frei lebenden Generationen sind ca. 0,049 mm lang und 0,024 mm breit.

Maße verschiedener Exemplare:

Weibchen von 1,271 mm.

Mund 21 μ , Oesophagus (mit Mund) 233 μ , vom Ende des Oesophagus bis zur Vulva 484 μ , von der Vulva bis zum Anfang des Schwanzes 483 μ , Schwanz 71 μ , Breite des Wurmes hinter dem Oesophagus 56 und auf der Höhe der Vulva 67 μ , Länge und Breite des zweiten Bulbus oesophagi 49 und 41 μ .

Weibchen von 617 μ .

Mund 13, Oesophagus (mit Mund) 109, Oesophagus — Vulva 199, Vulva — Anus 234, (Larven-)Schwanz 75 μ .

Breite hinter Oesophagus 36, auf der Höhe der Vulva 38 μ .

Im Körper dieses Weibchens waren 2 ausgeschlüpfte Larven von 180 μ Länge und 7—8 μ Breite und reife Eier von 45 μ Länge und 26 μ Breite.

Männchen: 756 μ .

Mund 21, Oesophagus 201, Breite hinter dem Oesophagus 45, Länge der Spicula 26, Distanz von der Basis der Spicula bis zum Schwanzanfang 41, Schwanz 56 μ ¹⁾.

Die filariaformen Larven des *Strongyloides bovis* sind feine, schlanke Tierchen von ca. 731 μ Länge. Sie sind sehr blaß und fallen gleich auf durch die Länge des Oesophagus. Diese beträgt beinahe die Hälfte des ganzen Wurmes.

Maße: Länge der Larve 731 μ , Länge des Oesophagus (mit Mund) 319 μ , Breite hinter dem Oesophagus 19 μ . Im Oesophagus sind keine Answellungen zu sehen und keine V-förmige Figur.

Uebergang zwischen Mund und Oesophagus nicht scharf abgegrenzt. Das Schwanzende ist nicht spitz, sondern eingeschnitten wie ein Fischschwanz. Die filariaformen Larven bewegen sich im Wasser sehr schnell, während die Bewegungen der geschlechtlichen Tierchen viel langsamer vor sich geht.

In der Natur finden die Strongyloidenlarven die für ihre Entwicklung günstigen Verhältnisse in feuchtem Mist und Erde. Besonders reichlich gedeihen sie in unsauber gehaltenen Ställen, und dort finden die Rinder eine bequeme Gelegenheit, sich zu infizieren.

Direktes Sonnenlicht schadet den Würmern nur insofern, als dadurch ihr Nährboden rascher austrocknet.

Die geschlechtlichen Würmer vermehren sich außerordentlich schnell. Wenn man einer Schale sterilen Kuhmistes ein wenig Strongyloidenkultur zufügt, wimmelt es (unter günstigen Verhältnissen) nach ca.

1) Für die Strongyloiden des Menschen fand ich bei Looss und Braun die folgenden Maße angegeben:

Strongyloides intestinalis 2,5—3 mm lang, 0,06—0,07 mm breit, dessen Eier 0,054 mm lang und 0,032 mm breit.

Strongyloides stercoralis: Männchen 0,7 mm lang und 0,035 mm breit, Weibchen 1 mm lang, 0,050 mm breit.

Junge Larve 0,35 mm lang, Eier 0,070 mm lang und 0,045 mm breit.

8 Tagen von Larven, die man mit der Lupe als feine, graue Fädchen sehen kann.

Die Strongyloiden haben auch ihre Feinde, welche dazu beitragen, ihrer zu starken Vermehrung Schranken zu setzen. So kommen hier in feuchter Erde Würmchen vor von derselben Länge wie die Strongyloiden, aber mit anders gestaltetem Mund und Oesophagus und sehr langem Schwanze. Bringt man diese Würmer zu einer Strongyloidenkultur, so verschwinden binnen wenigen Tagen die letzteren, und es bleiben in dem Substrat nur jene Langschwänze übrig.

Auch unter sich leben die Strongyloiden nicht im Frieden; die älteren fressen die jüngeren; unter dem Mikroskop sah ich ein Weibchen, welches eine Larve im Munde hielt und auch nach Formalinzusatz nicht losließ.

Künstliche Infektion von Rindern.

Zwei Kälbern No. 1 und No. 2 (siehe oben) wurden Kulturen von Strongyloiden eingegeben. Die Tiere wurden in einem sauberen Stall abgesondert, um zufälliger Infektion vorzubeugen.

Kalb No. 1 erhielt innerhalb 3 Monaten ca. 50 Petri-Schälchen Mist mit Strongyloiden. (Jedes Schälchen enthielt ungefähr 35 g Mist und durchschnittlich 7000 Strongyloiden in allen Stadien der Entwicklung, aber nur geschlechtliche Tierchen.) Ca. 4 Wochen nach Anfang der Strongyloidenfütterung waren im Kot des Kalbes Strongyloideier in geringer Zahl zugegen. 6 Wochen nach der letzten Infektion wurden auch nur wenig Eier im Mist gefunden, nur 1—2 auf jedem Ausstrichpräparat (auf Objektglas). (Ein Ausstrichpräparat enthielt ca. 200 mg Kot.)

Das Kalb, welches vollkommen gesund geblieben war, wurde jetzt geschlachtet. Im Duodenum wurden zahlreiche Strongyloiden angetroffen, aber viel weniger, als man nach den reichlichen Kulturenfütterungen hätte erwarten können.

Kalb No. 2 (6 Wochen alt) bekam 1 Petri-Schälchen Strongyloidenkultur (in Mist, nur geschlechtliche Würmer). Bereits 16 Tage nachher waren im Kot dieses Kalbes Strongyloideier (ich zählte 11 in einem Objektglasausstrichpräparat). Diese Eier waren kleiner als die bis jetzt in Rindermist und auch bei Kalb No. 1 gefundenen. Sie maßen 67 bis 68 μ in der Länge, 34 μ in der Breite und hatten viel Ähnlichkeit mit den Eiern der frei lebenden Generationen (waren nur etwas größer) und enthielten, wie diese, meistens schon eine Larve.

In Petri-Schälchen ins Laboratorium gestellt, waren nach 1 bis 3 Tagen aus diesen Eiern die Larven ausgeschlüpft; diese nahmen innerhalb 1—2 Tagen größtenteils die filariaforme Form an. Nur die Minderzahl wuchs zu geschlechtlichen Tieren aus. Die Nachkommenschaft dieser letzteren war nur filariaform, und so waren in den 7 Tage alten Faeces nur noch filariaforme Larven zu sehen. 14 Tage später (also 30 Tage nach der Infektion) wurde wieder eine Mistprobe vom Kalb No. 2 genommen und ins Laboratorium gestellt.

Diesmal nahm von den ausgeschlüpften Larven die Mehrzahl die geschlechtliche Form an, und 10 Tage später waren nur wenige filariaforme und viele geschlechtliche Würmer zugegen. (Von den in dieser Mistprobe anwesenden Eiern hatten einige die Größe der gewöhnlichen Darmstrongyloideier und enthielten, wie diese, auch Furchungskugeln.)

Kalb No. 2 wurde 1 Monat nach der ersten Strongyloideninfektion weiter infiziert mit Strongyloiden. Innerhalb 14 Tagen wurden ihm 10 Petri-Schälchen seines eigenen Mistes eingegeben, welcher 4—6 Tage im Laboratorium aufbewahrt war und massenhaft Strongyloiden enthielt, größtenteils filariaforme Exemplare. — Durch meine Abreise konnte ich dieses Kalb nicht weiter beobachten. Es blieb stets gesund, magerte nicht ab und wurde ca. 4 Monate nach der ersten Infektion geschlachtet. Dr. W. A. Kuenen hatte die Freundlichkeit, den Darmkanal zu untersuchen, fand aber keine Strongyloiden. Wo in diesem Falle die eingeführten Strongyloidenlarven geblieben waren, ist schwer zu sagen. — Weitere Versuche in dieser Richtung wären sehr wünschenswert.

Eine alte Kuh, in deren Kot keine Strongyloideneier nachgewiesen werden konnten, erhielt 2 Petri-Schälchen Mist vom Kalb No. 2 mit sehr vielen Strongyloidenlarven und 4 Tage später nochmals dieselbe Dosis.

Der Mist wurde untersucht nach 14, 18, 24 und 30 Tagen und wurden keine Strongyloideneier gefunden. Eine Mistprobe, 14 Tage nach der ersten Infektion, im Laboratorium aufbewahrt, blieb steril.

Aus Obigem geht hervor, daß sehr junge Tiere bisweilen leicht, ältere jedoch schwerer mit Strongyloiden zu infizieren sind.

Bei den ganz jungen Wiederkäuern sind die 3 ersten Magen noch nicht funktionsfähig, und die eingeführten Larven sind schneller am Ziel (Duodenum) als bei den älteren Tieren, wo sie in den ersten Magen (Pansen) geraten und wo vielleicht auf dem längeren Wege zum Duodenum viele absterben.

Um zu sehen, ob vielleicht die filariaformen Larven durch die Haut dringen, wurde ein wenig viele derartige Würmer enthaltendes Wasser auf die rasierte Haut eines Kalbes gebracht. Nach 2 Stunden wurde das Hautstück entfernt, gehärtet und von Dr. Kuenen mikroskopisch untersucht. In der Haut wurden keine Larven gefunden.

Wenn auch die mit Strongyloiden gefütterten Kälber keine Krankheitssymptome zeigten, so bin ich doch überzeugt, daß der *Strongyloides bovis* im stande ist, bei Rindern, welche sich in weniger günstigen Verhältnissen befinden, Krankheitserscheinungen und sogar den Tod zu verursachen.

Dazu veranlassen mich folgende Beobachtungen:

Bei krepiereten oder notgeschlachteten Rindern war die Duodenalschleimhaut bedeckt von einer glasähnlichen, etwas blutig gefärbten Schleimschicht. Mit der Lupe konnte man sehen, daß die rote Farbe von Tausenden von Strongyloiden herrührte, welche (durch Blutaufnahme) etwas rötlich aussahen.

Im Anfang des Duodenums waren sie am reichlichsten; etwa 3 Meter hinter dem Pylorus traf man sie nur vereinzelt an und im Dickdarm nur die Eier.

Die Darmmucosa war etwas hyperämisch und stellenweise leicht ödematös, sonst makroskopisch nicht verändert. Nur fand ich dann und wann (nicht bei allen Tieren) in der Dünndarmmucosa kleine Abscesse von 2—4 mm Durchmesser und mit eitrigem Detritus gefüllt. Bei einem Ochsen enthielten zwei dieser Abscesse je eine Larve von ca. 2,166 mm Länge und 0,100 mm Breite (Taf. I, Fig. 6) ohne sichtbare Geschlechtsorgane und waren größer und dicker als die frei im Darmschleim vorkommenden jungen Strongyloiden und mit anders gebildetem Mund. Ob das jedoch Strongyloidenlarven waren, wage ich nicht zu behaupten —

im Darm des betreffenden Ochsen wurden allerdings keine anderen Wurmartenvorgefunden.

In Präparaten von abgeschabter Schleimhaut an hyperämischen Stellen konnte ich nie Larven entdecken und auch keine Eier. Dr. W. A. Kuenen, der so gefällig war, ein paar Strongyloiden enthaltende Duodenum, nach Härtung, mikroskopisch zu untersuchen, konnte auch in der Darmwand keine Wurmgänge, Eier oder Larven finden¹⁾.

Obwohl also die pathologischen Veränderungen der Darmschleimhaut nur gering waren, so deuten doch die Hyperämie und die erhöhte Schleimhautsekretion auf einen Reizungszustand hin, welche ohne Zweifel Funktionsstörung des Duodenums und Krankheitserscheinungen von seiten des Tieres verursachen wird.

Während des Lebens hatten die betreffenden Rinder oft monatelang an chronischen (bisweilen intermittierenden) Diarrhöen gelitten. Behandlung mit Tannoform gab nur für wenig Tage Besserung. Der Appetit blieb gut bis kurz vor dem Tode; die Tiere wurden immer magerer und anämischer.

Häufig komplizierte sich der Zustand noch mit anderen Darmparasiten oder mit Blutkrankheiten (Surra oder Piroplasmose).

Die Krankheit verlief afebril — Hämoglobingehalt, mit Tallqvist-Skala gemessen, fiel bis auf 50, 40 und sogar 30 — (bei normalen Rindern 75—80).

Behandlung der Tiere hatte wenig Erfolg. Thymol, Kreosot, Ol. tereb., Tart. emetic., Arsenicum und Pulv. areca. wurden probiert. Sogar nach großen Dosen waren Darm und Faeces nicht frei von Würmern und Eiern.

Für die Diagnose ist das Auffinden von den Strongyloideneiern in den Faeces wichtig. Die größte Zahl Eier, die ich in einem Ausstrichpräparat fand, war 15. Meistens findet man weniger, auch bei schweren Infektionen. Die enorme Mistmenge, welche von den Rindern produziert wird, und in dem sich die Eier verlieren, ist daran schuld.

Schwere Infektionen mit Durchfall sah ich hauptsächlich bei jungen Rindern von höchstens 3 Jahren. Sehr wahrscheinlich waren diese Tiere schon in den ersten Monaten ihres Lebens infiziert. In nicht zu großer Zahl werden die Würmer gut vertragen. Ich fand sie öfters in dem Darm von Ochsen, welche im Leben keine objektiven Krankheitssymptome gezeigt hatten.

2) Ein Agriostomum.

Mit obengenannten Strongyloiden lebt gewöhnlich zusammen im Darmkanal des Rindes eine andere Nematode, welche ich anfangs für ein *Ankylostomum* ansah.

Ich schickte ein paar Exemplare an Prof. Railliet in Paris, der die Freundlichkeit hatte, den Wurm zu determinieren. Er nannte ihn, als eine neue Species, *Agriostomum Vryburgi*²⁾.

Der Wurm ist äußerlich schwer von einem *Ankylostomum* zu unterscheiden; er ist fadenförmig, kreisrund, mit quervergeringelter Ober-

1) Der *Strongyloides intestinalis* des Menschen wird, wie bekannt, von verschiedenen Autoren für die Ursache von chronischen intermittierenden Diarrhöen erklärt. Er gräbt Gänge in die Darmmucosa und legt darin die Eier ab. Die Larven werden dort geboren und kommen erst später frei in das Darmlumen.

2) Railliet, A., Sur quelques Scérostomiens, parasites des ruminants et des porcins. (Compt. rend. des séances de la soc. de biol. [Séance du 1 févr. 1902].)

haut. Die Männchen sind 11,66—17,83 mm, im Durchschnitt 14,9 mm lang und 0,417 mm breit, haben eine Bursa und 2 sehr lange Spicula. Die Weibchen messen 13—22 mm, im Durchschnitt 17,5 mm.

Bei einem Männchen von 16,25 mm Länge und 0,483 mm Breite war der Oesophagus 1,416 mm, die Spicula 5,333 mm lang (davon kamen 1,167 mm auf den aus dem Körper hervorragenden Teil).

Von einem Weibchen von 22 mm war der Mund 0,267 mm lang und 0,233 mm breit, Oesophagus 1,75 mm lang, Körperbreite hinter dem Oesophagus 0,500, auf der Höhe der Vulva 0,633 und beim Anus 0,267 mm, Schwanz 0,417 mm. Die Vulva liegt etwas vor dem Ende des zweiten Drittels des Wurmes. Die Länge des Oesophagus beträgt beim Männchen etwas mehr, beim Weibchen etwas weniger als $\frac{1}{12}$ der Gesamtlänge. Die Eier werden mit den Faeces des Wirtes entleert; sie messen durchschnittlich 0,116 mm in der Länge und 0,060 mm in der Breite. Sie sind oval, an beiden Polen gleichmäßig rund, mit dünner, farbloser Schale ohne Deckel und mit dunkelgrauem Inhalt. Der letztere besteht in frisch entleerten Faeces aus 8—16 Furchungskugeln.

Unter günstigen Umständen kommen nach 1—3 Tagen aus den Eiern die Larven frei, diese sehen im Anfang gleichmäßig dunkelgrau und körnig aus. Sie sind ca. 0,550 mm lang und 0,022 mm breit. Länge des Oesophagus $\frac{2}{9}$ der Gesamtlänge. Der Schwanz ist kurz.

Der Wurm macht bald eine (erste) Häutung durch und wird dann heller, und man kann (1—2 Tage nach der Geburt), wenn auch öfters undeutlich, die verschiedenen Teile besser unterscheiden: Mund und Oesophagus mit der Anschwellung am Ende desselben und die eigenartige T-Figur in dessen Mitte. 4 Tage nach dem Ausschlüpfen hat sich unter der alten eine neue (dritte) Haut gebildet. Die alte Haut wird diesmal nicht abgeworfen, aber umgibt das Tier wie eine Scheide, die am Kopf- und Schwanzende nicht vollkommen ausgefüllt wird, so daß die Larve sich darin etwas bewegen kann. Bei den Schlangelungen des Tieres legt sich diese Scheide auf der konkaven Seite in feine regelmäßige Falten.

Auch in diesem Zustande haben die Larven sehr viel Ähnlichkeit mit den „reifen“ Ankylostomum-Larven (wie Looss diesen Zustand nennt), und ebenso wie diese sind sie jetzt infektiösfähig.

Kurz vor und nach der zweiten Häutung ist der Bulbus oesophagi zum Teil bedeckt von feinen Körnern (Reservefutter), bei älteren encystierten Würmern ist durch Verbrauch von Reservefutter der vordere Teil des Wurmes wieder aufgehellert; der Darm ist dann nicht mehr grau, sondern hat einen bläulich-grünen Reflex; in der Mitte läuft der Länge nach eine braune, flache Zickzacklinie.

Die reife Larve mißt 0,633—0,833, im Durchschnitt 0,739 mm in der Länge und 0,022 mm in der Breite. Die Breite nimmt vom Bulbus oesophagi nach vorn und vom Anus nach hinten ab. Schwanz ist kurz.

Oesophaguslänge ca. $\frac{1}{6}$ der ganzen Länge. Es sind schlanke, elegante Tierchen, welche man in einem Wassertropfen unter dem Mikroskop sich lebhaft, schlangenartig bewegen sieht. Von Zeit zu Zeit liegen sie einen Augenblick still und rollen sich wie eine Spirale auf, um sich dann wieder zu strecken und davonzuschwimmen.

Die eben aus dem Ei geschlüpften Agriostomen unterscheiden sich von jungen Strongyloiden durch ihre größere Länge und dunklere Farbe, weiter ist die T-Figur im Bulbus oesophagi bei den Strongyloiden viel mehr auffallend. Die älteren Agriostomen erkennt man gegenüber den

älteren geschlechtlichen Strongyloiden an ihrem Oesophagus, ihrem schlankeren Körperbau und durch das Fehlen der Einknickung am Schwanzanfang.

Reife Agriostomum-Larven haben so wenig Ähnlichkeit mit geschlechtlichen Strongyloiden, daß eine Verwechslung nicht möglich ist. Auch Verwechslung mit filariaformen Strongyloiden ist ausgeschlossen, da diese letzteren schmaler und blässer sind, sich noch viel schneller bewegen und durch ihren langen Oesophagus gleich auffallen.

Die Agriostomum-Eier und -Larven haben aber sehr viel Ähnlichkeit mit denjenigen eines Magenwurmes, dem Strongylus contortus. Da ich immer mit Mischinfektionen zu tun hatte, war es sehr schwierig, die zwei Sorten auseinanderzuhalten. Mit den unreifen Larven gelang mir dies überhaupt nicht. Die Eier des Contortus sind eben so breit, aber gewöhnlich ein wenig länger als die Agriostomum-Eier.

Die reifen Contortus-Larven schienen mir etwas größer, mit breiterer Darmpartie, welche mehr grau aussah.

Die Agriostomum-Larven gedeihen sehr gut bei 25–30° C in nicht zu feuchten Faeces oder Erde. In Kulturen kann man das schnelle Ausschlüpfen der Larven fördern, wenn man die Faeces mit Knochenkohl, Sand oder Sägemehl mischt. Durch Austrocknen sterben Eier und Larven ab. Zu große Feuchtigkeit wirkt ungünstig, jedoch sind in dieser Beziehung die Agriostomen viel resistenter als die Strongyloiden, welche in zu feuchtem Mist viel eher zu Grunde gehen. Wurden Eier mit beginnender Larvenbildung in einen Tropfen Mistemulsion unter ein Deckglas gebracht und durch Vaselinerand vor Eintrocknung geschützt, dann blieben die ausgeschlüpfen Agriostomen bisweilen tagelang (einmal sogar 10 Tage) am Leben, während die jungen Strongyloiden beinahe immer innerhalb 24 Stunden starben.

In reinem Brunnenwasser können die reifen Larven längere Zeit leben, und in feuchtem Mist oder Erde habe ich sie monatelang am Leben erhalten.

Der von den Rindern im Freien abgesetzte Mist trocknet bald an der Oberfläche zu einer Kruste ein, welche auf vor Sonnenlicht geschützten Stellen das Innere längere Zeit vor dem Austrocknen behütet. Von Regenwürmern werden die unteren Schichten mit Erde gemischt, zu einer lockeren Substanz, welche einen ausgezeichneten Boden für die Larven darstellt, und wo sie längere Zeit am Leben bleiben, auch wenn die geschlechtlichen Strongyloiden schon längst von auftretenden Langschwanzwürmern vernichtet sind. Vielleicht können die Agriostomen durch ihre große Beweglichkeit ihren Feinden ausweichen.

Die Rinder infizieren sich wahrscheinlich mit Futter, das zufällig verunreinigt wurde mit larvenhaltigem Mist oder Erde.

Auch ist es möglich, daß beim Liegen an infizierten Orten derartiger Mist an der Haut klebt und nachher abgeleckt wird.

Infektion mittels Trinkwassers ist nur möglich, wenn an infizierten Stellen die Tiere Wasser aus untiefen Pfützen trinken. Brunneninfektion ist weniger zu befürchten, da die Larven, wenn sie ins Wasser geraten, bald zu Boden sinken und liegen bleiben, wenn man sie in der Ruhe läßt (dieses Verhalten ist dasselbe, wie Looss es zuerst für Ankylostoma beschrieb).

Um zu untersuchen, ob direkte Infektion durch die unverletzte Haut möglich ist (wie das bei Mensch und Hund mit Ankylostomum-

Larven von Looss konstatiert wurde), wurde bei einem (1 Monat alten) Kalb eine kleine Quantität Wasser mit vielen reifen Larven auf die rasierte Haut gebracht. Nach 2 Stunden war das Wasser verdunstet¹⁾.

Ein kleines Hautstückchen wurde dann entfernt, gehärtet und von Dr. Kuenen mikroskopisch untersucht. Es wurden keine Larven in der Haut gefunden.

Bei demselben Kalb wurde eine $\frac{1}{2}$ —1 cm dicke Schicht Mist, worin viele reife Larven, auf die rasierte Haut aufgetragen, 2 Stunden liegen gelassen und dann entfernt. Die Haut wurde dann mit Wasser gereinigt. (Vor und nach dieser Behandlung wurden Mistproben mikroskopisch untersucht, die Zahl der Larven war in beiden Fällen ungefähr dieselbe.)

Das Kalb war seit der Geburt isoliert in einem sauberen Stall, um eine zufällige Infektion zu verhüten. 1 Monat nach der ersten Hautinfektion traten jedoch Agriostomum-Eier in dem Mist auf. Die Larven sind in diesem Falle sehr wahrscheinlich durch die Haut eingedrungen. Leider waren diese Versuche nicht ganz einwandsfrei, da das Kalb, als es nach 2 Stunden freigelassen wurde, aus Versehen keinen Maulkorb bekam. Die Möglichkeit besteht also, daß es sich nachher geleckt und noch nicht eingedrungene Larven verschluckt hat.

Infiziert man ein Rind per os mit reifen Larven enthaltendem Material, so treten nach 4—6 Wochen die Agriostomum-Eier in den Faeces auf.

Die Agriostomen sind in diesem Lande sehr verbreitet unter den Rindern. Sie verursachen in kleinen Quantitäten keine nachweisbaren Krankheitserscheinungen. Bei Masseninfektion sind sie aber nicht harmlos und können, speziell bei jungen Tieren, Abmagerung und Anämie und sogar den Tod verursachen. Bei einem einjährigen Kalb, das unter den Erscheinungen von schwerer Anämie und Abmagerung verendete, zählte ich im Duodenum über 1000 Agriostomen. Diarrhöen sah ich nur auftreten in den Fällen, wo zu gleicher Zeit eine schwere Strongyloideninfektion vorlag.

Man trifft die Agriostomen hauptsächlich im Duodenum — über 1 Meter vom Pylorus entfernt kommen sie nur sporadisch vor. Auch im Labmagen in der Nähe des Pylorus fand ich nebst Eiern einige Exemplare des Wurmes. Sie hatten sich dort nicht in der Mucosa eingebissen, wie dies in dem Darm Regel ist, sondern lagen frei auf der Schleimhaut.

Verschiedene Pärchen kann man in copula antreffen. Die Würmer beißen sich in der Darmmucosa fest und verursachen so kleine Wunden und Blutungen, welche schon makroskopisch sichtbar sind. Dr. Kuenen, der eine so angebissene Darmpartie härtete und mikroskopisch untersuchte, konnte feststellen, daß die pathologischen Veränderungen der Darmwand denen, welche Looss angibt, für den Menschendarm bei Ankylostomiasis sehr ähnlich sind²⁾ (Taf. V).

Beim Härten und Fixieren des Darmes fallen die meisten Agriostomen ab, einige bleiben sitzen. Schließt man eine der letzteren mit

1) Die Larven waren auf dieselbe Weise gesammelt, wie Looss bei Ankylostomum angibt. Die Larvenkultur wurde nämlich mit Wasser überschichtet. Nach 2 Stunden wurde das Wasser abgossen; dieses enthält dann wenigstens einen Teil der Larven. Man filtriert durch Filtrierpapier, die Agriostomen und die jüngeren Strongyloiden erscheinen dann nach einigen Stunden mit im Filtrat; die Strongyloiden sterben sehr rasch ab, und man behält nur die reifen Agriostomum-Larven.

2) Looss, Handbuch der Tropenkrankheiten von Dr. C. Mense. Bd. I. p. 118.

einem Stückchen der umringenden Darmwand in Paraffin ein und macht Serienschnitte, so sieht man in kurzem folgendes: Der Wurm liegt mit dem Kopf in einer Aushöhlung der Schleimhaut, das umgebende Gewebe ist gegen den Kopf plattgedrückt. Ein Stückchen Schleimhaut ist in die Mundhöhle des Wurmes eingezogen und sieht knopfförmig aus; mit einem Stiel ist es mit der Darmmucosa verbunden. Diese letztere zeigt nach der Mundöffnung des Wurmes hin strahlenförmige Falten. In den untersuchten Präparaten fand sich in der Nähe des Wurmbisses ein kleinzelliges Infiltrat der Schleimhaut. Im zusammengezogenen Teile der Mucosa bis zum Stiel war die Struktur erhalten geblieben, im Stiele selbst waren noch einzelne Drüsenröhrchen zu erkennen, während im knopfförmigen Teil die Struktur teilweise verloren gegangen war, die Kerne ließen sich aber gut färben. Auch im Lumen des Oesophagus des Wurmes waren noch Gewebelemente mit deutlich färbbaren Kernen zu sehen. (Looss schließt aus ähnlichen Bildern bei dem Ankylostomum des Menschen, daß letztgenannter Wurm sich mit dem Gewebe der Darmmucosa nährt.)

Die Schleimhaut der Darmwand war in den untersuchten Präparaten bis über die Hälfte ihrer Dicke von dem Wurm beschädigt. (Looss beschreibt, wie der Biß des Ankylostomum des Menschen bis auf die Submucosa durchdringt.)

Behandlung. Dieselben Mittel, welche gegen die Strongyloiden-seuche probiert wurden, fanden auch hier Anwendung und mit etwas besserem Erfolg. Wenn aber die Tiere wenig Tage nach der Kur geschlachtet wurden, waren immer noch lebendige Würmer zu sehen.

Die Zahl der Eier im Kot war aber durch die Behandlung weniger geworden. Auch bei schweren Infektionen fand ich verhältnismäßig wenig Eier in den Faeces (höchstens 6 auf einem Objektglaspräparat).

Von mehr Interesse als die medikamentöse ist die prophylaktische Behandlung, nämlich Sauberhalten der Ställe und Umgebung und Drainierung des umliegenden Terrains.

Deli (Sumatra), Januar 1907.

Erklärung der Abbildungen.

Tafel I. *Strongyloides bovis*. (Darmgeneration.)

- Fig. 1. Weibchen. Vergrößerung 50—70mal.
- Fig. 2. Männchen. Vergrößerung 50—70mal.
- Fig. 3. Eier. Vergrößerung 300mal.
- Fig. 4. Hinteres Ende vom Männchen (mit Spicula und Bursa). Vergrößerung 250mal.
- Fig. 5. Vorderes Ende des Wurmes. Vergrößerung 150mal.
- Fig. 6. Larve aus einem Darmwandabsceß. Vergrößerung 50mal.

Tafel II. *Strongyloides bovis*. (Freilebende Generation.)

- Fig. 1. Weibchen (mit Eiern im Körper). Vergrößerung 100—150mal.
- Fig. 2. Männchen. Vergrößerung 100—150mal.
- Fig. 3. Junge Larve. Vergrößerung 250mal.
- Fig. 4. Hinteres Ende des Männchens mit Spicula (von der Seite gesehen). Vergrößerung 500mal.
- Fig. 5. Hinteres Ende des Männchens (von oben gesehen). Vergrößerung 250mal.
- Fig. 6. Filariaforme Larve. Vergrößerung 150mal.
- Fig. 7. Schwanzende derselben. Vergrößerung 900mal.

Tafel III. *Agriostomum Vryburgi*.

- Fig. 1. Männchen. Vergrößerung \pm 10mal.
- Fig. 2. Weibchen. Vergrößerung \pm 10mal.

- Fig. 3. Pärchen in copula. *m* Männchen, *w* Weibchen. Natürliche Größe.
 Fig. 4. Eier. Vergrößerung ± 230 mal.

Tafel IV. *Agriostomum Vryburgi*.

- Fig. 1. Kopfbende des Wurmes. *m* Mund, *oes* Oesophagus. Vergrößerung ca. 75mal.
 Fig. 2. Schwanzende des Männchens mit Spicula (*sp*) und Bursa (*b*). Vergrößerung ca. 75mal.
 Fig. 3. Junge Larve (eben aus dem Ei geschlüpft). Vergrößerung ca. 250mal.
 Fig. 4. Kopfbende von 2 Tage alten Larven. Vergrößerung ca. 500mal.
 Fig. 5. Encystierte Larve. Vergrößerung ca. 200mal.
 Fig. 6. Kopfbende derselben. Vergrößerung ca. 500mal.

Tafel V. *Agriostomum Vryburgi*.

- Fig. 1 u. 2. Darmwand mit *Agriostomum*. *a* Kopf von *Agriostomum*, *d* Darmwand, *k* knopfförmiges Stückchen Darmmucosa vom *Agriostomum* eriaßt und abgeschnürt, *l* Darmlumen. (Photogr. Aufnahme von Dr. W. Schöffner, Deli.)

Nachdruck verboten.

Ueber Toxine und Antitoxine des Cholera-vibrio. Experimentelle Grundlage einer antitoxischen Choleratherapie.

[Aus dem staatlich-serotherapeutischen Institute in Wien
 (Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. R. Kraus und k. u. k. Reg.-Arzt Dr. V. K. Russ.

Mit 2 Kurven.

(Fortsetzung.)

Man kann auch beobachten, daß kranke Tiere, welche ein lebhaftes Zittern und große Mattigkeit zeigen, sich vollständig erholen können und am Leben bleiben.

Viel weniger wirksam als für Meerschweinchen ist dieses Gift für Kaninchen, und selbst die intravenöse Injektion wirkt unsicher. Auch Mäuse verhalten sich diesem Gifte gegenüber weniger empfindlich als Meerschweinchen, ebenso Tauben, Hühner, die bei intravenöser Injektion am Leben bleiben (s. Tabelle VIII).

Die verschiedene Resistenz der Kaninchen, Tauben und Hühner diesem Gifte gegenüber unterscheidet dieses Toxin, wie sich zeigen wird, von den Giften der anderen Vibrionen (El Tor), die sowohl für Meerschweinchen als auch für Kaninchen und Vögel giftig sind. Diese Feststellung führt uns, wie früher angedeutet wurde, zu der Vermutung, daß die Gifte von Ransom, Metschnikoff, Roux und Salimbeni — die für Kaninchen weniger wirksam waren als für Meerschweinchen — auch von Cholera-vibrionen herrühren dürften. Eine Unterstützung findet diese Vermutung darin, daß gegenüber den Giften anderer Vibrionen die Cholera-gifte bei intravenöser Applikation erst nach einigen Stunden die Tiere töten, wogegen die anderen Vibrionengifte akut in einigen Minuten bei dieser Art der Applikation wirken.

Die Cholera-gifte sind nicht so stark wie das Diphtherie- oder Tetanusgift, da viel größere Mengen notwendig sind, um empfindliche Tiere zu töten.

Man könnte daran denken, daß das Diphtherie-, Tetanus-, Botulismustoxin wirkliche Sekretionsprodukte der Bacillen sind, dagegen die Dys-

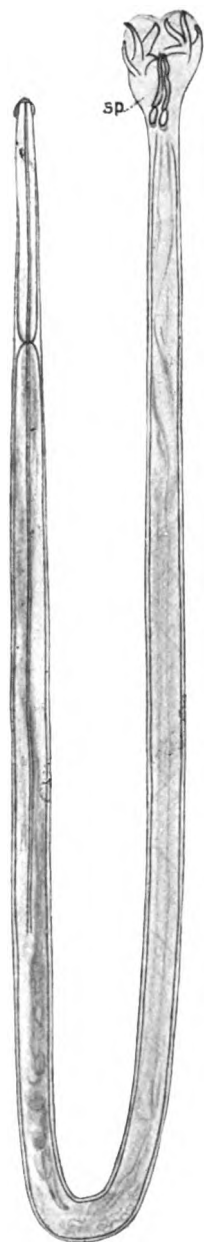


Fig. 2.

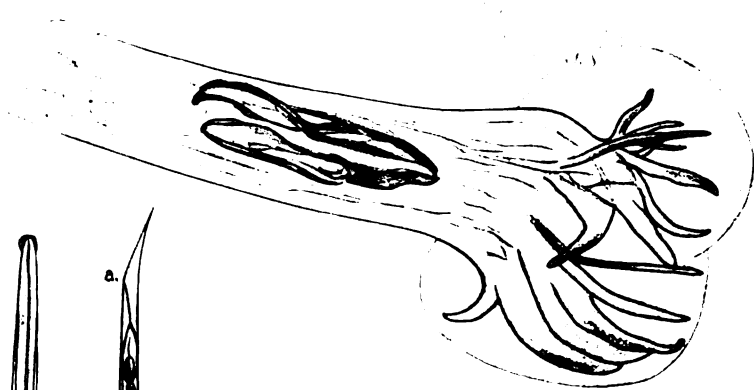


Fig. 4.

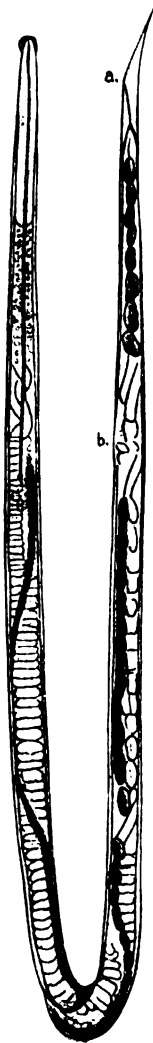


Fig. 1.



Fig. 3.

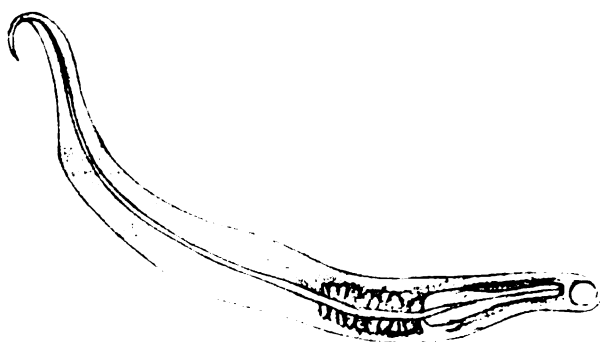


Fig. 6.

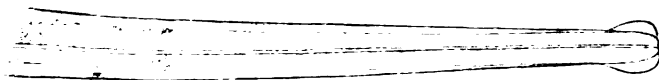


Fig. 5.

Verlag von Gustav Fischer in Jena.

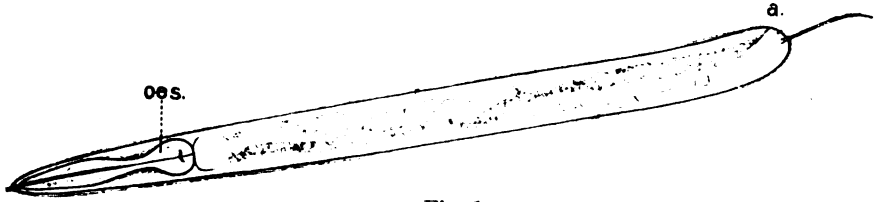


Fig. 1.

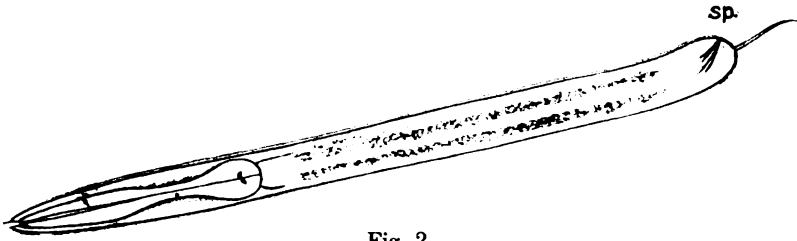


Fig. 2.

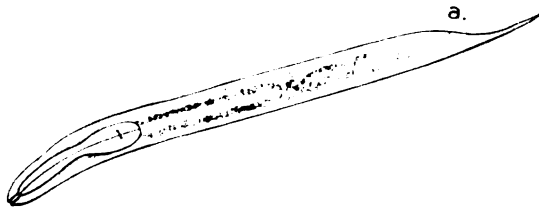


Fig. 3.

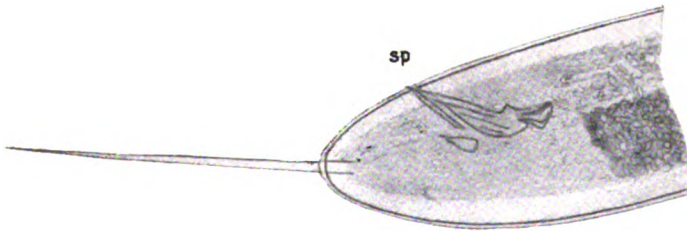


Fig. 4.

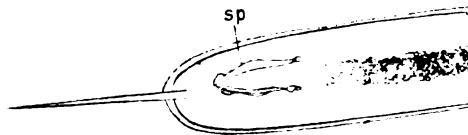


Fig. 5.

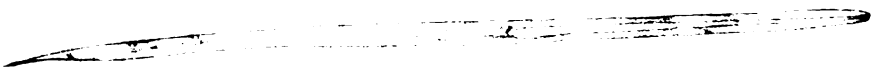


Fig. 6.

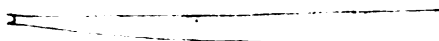


Fig. 7.

Journal of Management Education

enterie-, Cholera-, Typhusgifte bloß durch Zerfall, Autolyse der Bakterien-leiber frei werden und dadurch erst in Lösung übergehen. Ein sicherer Beweis dafür, ob die löslichen Dysenterietoxine, Cholera-toxine sezerniert sein dürften oder durch Zerfall der Bakterienleiber frei in Lösung übergehen, liegt bisher nicht vor. Unserer Meinung nach ist aber diese Frage sekundärer Natur. Prinzipiell wichtig erscheint uns vielmehr, ob diese löslichen Gifte als Toxine aufgefaßt werden dürfen. Durch die Versuche von Brau und Denier sowie durch eigene, die im Kapitel über Antitoxine wiedergegeben werden, ist die antigene Eigenschaft sichergestellt. Diese löslichen Gifte wirken, wie gezeigt wird, immunisierend und erzeugen Antitoxine.

Tabelle VIII.
Toxizität der Gifte für verschiedene Tiere bei verschiedener Applikation.

Stamm	Alter der Kultur	Injektions-		Tierart	Resultat	Kontrollversuch an Meerschweinchen intraperitoneal
		Menge	Modus			
Saigon L	18 Tage	1,0 ccm	intra-peritoneal	Maus	gesund	} 2 ccm, † in 24 Std.
		0,5 "	"	"	"	
		0,1 "	"	"	"	
Saigon L	8 "	5,0 "	"	Kaninchen	"	} 3 ccm, † in 24 Std.
		3,0 "	"	"	"	
Saigon L	18 "	5,0 "	"	"	"	
Saigon L	8 Tage	2,0 ccm	subkutan	Meer-schweinchen	kleines Infiltrat, lebt	1 ccm, † in 24 Std.
	18 "	3 "	"	"	do.	} 3 ccm, † in 24 Std.
		4 "	"	"	† in 4 Stunden	
Saigon K	8 "	2 "	"	"	kleines Infiltrat, lebt	1 ccm, † in 24 Std.
	18 "	3 "	"	"	do.	2 ccm, † in 24 Std.
Saigon G	18 "	3 "	"	"	do.	do.
Saigon L	10 Tage	2 ccm	intravenös	Meer-schweinchen	† nach 24 Std.	} 2 ccm, lebt
		1 "	"	"	krank, erholt sich	
		2 "	"	Kaninchen	lebt	
	10 "	5 "	"	"	† nach 24 Std.	1 ccm, † in 24 Std.
	5 "	2 "	"	"	† nach 4 Tagen	} 2 ccm, † in 24 Std.
		1 "	"	"	lebt	
Saigon K	10 "	2 "	"	"	† in 4 Stunden	1 ccm, † in 24 Std.
	5 "	10 "	"	"	lebt	} 1 ccm (Reichel-Filter), † in 24 Std.
	(Reichel-Filter)	5 "	"	"	"	
Saigon L	10 Tage	2 "	"	Taube	"	} 1 ccm, † in 24 Std.
		1 "	"	"	"	
		2 "	"	Huhn	"	
		1 "	"	"	"	

Neuere Untersuchungen, welche wir an den aus Rußland und Hamburg bezogenen Stämmen angestellt haben, zeigten, daß auch diesen Stämmen toxische Eigenschaften zukommen.

Die Gifte der russischen Cholera-stämme.

Wie aus folgender Tabelle hervorgeht, lassen sich in der optimalen Bouillon auch aus den Cholera-stämmen, welche gelegentlich von Epidemien aus Rußland gezüchtet wurden, Gifte gewinnen. Es scheint, als ob auch hier in der Toxizität Unterschiede vorhanden wären, insofern

**Toxinprüfung durch Papier filtrierter Kulturen intraperitoneal
an Meerschweinchen.**

Name	Alter der Kultur	Injizierte Menge	Resultat
Saratow S 10	10 Tage	0,5 ccm	† in 4 Stunden
Persien R	10 "	3 "	† in 24 "
Tiflis 13	10 "	3 "	† in 48 "
Tiflis 12	10 "	3 "	† in 24 "

als der Stamm Saratow S 10 am konstantesten die besten Gifte liefert. Auch die mit diesen Stämmen injizierten Meerschweinchen gehen auf Dosen von 0,3—0,5 ccm innerhalb 4—24 Stunden unter solchen Erscheinungen zu Grunde, wie die mit einem Saigongifte injizierten. Kaninchen verhalten sich auch hier weitaus resistenter als Meerschweinchen. Die so wie bei den Saigonestämmen eigens angestellten Untersuchungen über das zeitliche Auftreten vom Toxin in Kulturen und dessen Beziehungen zu der Alkaleszenzänderung in denselben haben, wie die folgende Tabelle lehrt, ergeben, daß mit dem Alter der Kultur

(Die Prüfung wurde genau so wie bei dem Parallelversuch mit Stamm Saigon G, hier mit Stamm Saratow 10, vorgenommen.)

Alter der Kultur	Alkaleszenzgrad in $\frac{1}{10}$ ccm Normal-HCl vom Neutralpunkt		Injizierte Menge	Resultat	
	Kölbchen a	Kölbchen b		Kölbchen a	Kölbchen b
5 Tage	0,05	0,05 Lauge	2 ccm	lebt	lebt
10 "	0,3	0,3 $\frac{1}{10}$ N.HCl	2 "		
15 "	0,85	0,75 "	2 "	† n. 24 Std.	"
20 "	1,1	0,9 "	2 "	† in 24 Std.	"

die Alkaleszenz steigt und mit der Zunahme dieser auch die Giftbildung zu wachsen scheint.

Während die Kölbchen a sowohl nach 15 wie nach 20 Tagen Gift enthalten, fehlt es in den weniger alkalischen Kölbchen b vollständig.

Gifte der Hamburger Cholerastämme.

Ebenso wie die Saigon- und russischen Stämme, haben einzelne der uns von Dunbar überlassenen Kulturen, wie die Tabelle zeigt, in 10- und 13-tägigen Bouillonkulturen Gifte produziert. Daß die Toxine der Hamburger und auch die der russischen Stämme wirklich als Toxine aufzufassen sind, dafür sprechen die im Kapitel Antitoxine angeführten Versuche.

**Toxinprüfung durch Papier filtrierter Kulturen intraperitoneal
an Meerschweinchen.**

Name	Alter der Kultur	Injizierte Menge	Resultat
Fernandez	10 Tage	3 ccm	† in 4 Stunden
Gaffky 216	10 "	3 "	† in 4 "
Kubale	10 "	3 "	† in 4 "
Kolle-Flügge	10 "	3 "	† in 4 "
Zalusky	10 "	4 "	† in 16 "

Die endocellulären Gifte, sogenannte Endotoxine.

Neben diesen löslichen Giften der Choleravibrionen, die durch Antitoxine neutralisierbar sind, haben in letzter Zeit sowie schon früher Pfeiffer und Wassermann, Hahn und Macfadyen im Bakterienleib giftige Substanzen, sogenannte Endotoxine, nachgewiesen.

Den Nachweis, daß die Bakterienleiber giftig sind, haben, wie bekannt, bereits Pfeiffer und Wassermann dadurch erbracht, daß die mit Chloroform oder Wärme abgetöteten Kulturen den Tod der Meerschweinchen herbeiführten. Es gelang aber diesen Forschern nicht, mit den abgetöteten Cholera vibrionen Meerschweinchen antitoxisch zu immunisieren und auch nicht ein Antitoxin zu gewinnen.

Macfadyen benutzte zur Gewinnung der endocellulären Toxine die Gefriermethode. Die wässrige Emulsion (18-stündige Agarkulturen) wurde zentrifugiert und gewaschen. Die Bakterien werden dann bei der Temperatur der flüssigen Luft zerkleinert und das Produkt in einer Kalilauge 1:1000 aufgenommen. Beim Zentrifugieren bekommt man eine obere Schicht, aus 10 Proz. Extrakt der Bacillen bestehend. Diese wurde abgehoben und rasch mit Chloroform behandelt. Die Zellsäfte waren steril und akut toxisch. Durchschnittlich war $\frac{1}{10}$ — $\frac{1}{20}$ ccm toxisch, wenn die Kultur virulent war. Waren die Kulturen weniger virulent, so war die Toxizität 0,3—0,5. Diese Gifte wirken bei Meerschweinchen (300 g) peritoneal und auch subkutan. Für Kaninchen sind sie bei intravenöser Injektion (0,3—0,5 ccm) akut giftig. Die aufbewahrten Säfte verlieren rasch an Toxizität, auch werden sie durch höhere Temperaturen (55—60°) geschädigt.

Daß diese Gifte als Toxine anzusehen sind, ist durch die Neutralisationsversuche mit Antitoxin bewiesen. Leider gibt Macfadyen nicht näher an, wie der Vibrio, der zu diesen Versuchen benutzt wurde, sich gegenüber einem agglutinierenden Choleraserum oder im Pfeifferschen Peritonealversuch verhält.

Ganz analoge Versuche, wie sie Macfadyen angestellt hatte, wurden bereits früher schon von M. Hahn durchgeführt. Allerdings kommt M. Hahn auf Grund seiner Versuche zu dem Schluß, daß der Nachweis spezifischer Endotoxine nicht gelungen ist. Demgegenüber müssen wir auf Grund Hahns eigener Versuche die Ansicht vertreten, daß die von ihm aus Cholera vibrionen durch Autolyse gewonnenen endogenen Gifte die Charaktere aufweisen, die wir von Toxinen verlangen.

Hahn konnte nämlich mittels Autolyse durch 48 Stunden aus Cholera vibrionen Gifte gewinnen, welche in Mengen von 0,5—1,5 für Meerschweinchen bei subkutaner Injektion tödlich wirkten. Die Giftwerte waren inkonstant, gewöhnlich 0,3 ccm, ein andermal erst in Mengen von 2—3 ccm wirksam. Auch für Pferd und Ziege erwiesen sich die Autolysate giftig. Ein Gift, das für Meerschweinchen in Mengen von 1 ccm tödlich war, tötete ein Pferd nach subkutaner Injektion von 10 ccm.

Diese Gifte haben antigene Eigenschaften. Das Serum einer vorbehandelten Ziege und eines Pferdes hatte neutralisierende Wirkung. Nichts beweist, daß Hahn mit dem Toxin kleine Tiere nicht immunisieren konnte, da ja gerade diese Tiere, die er benutzt hatte, keine nennenswerten Antitoxinproduzenten sein müssen. Immerhin gelang es Hahn, eine Ziege und ein Pferd aktiv zu immunisieren, so daß trotz der Giftempfindlichkeit dieser Tiere große Dosen der endogenen Gifte vertragen werden. Das Serum dieser Tiere vermochte auch die Gifte zu neutralisieren.

Wir glauben, daß die Versuche Hahns sich mit den von Macfadyen decken und ebenso beweisen, daß der Cholera vibrio im Leib endogenes Gift enthält, welches als Toxin charakterisiert zu werden verdient.

In ganz demselben Sinne lassen sich auch unsere Versuche über

Giftnachweis im Bakterienleib der Choleravibrionen verwerten. Wie aus der folgenden kurzen Zusammenstellung hervorgeht, zeigt es sich, daß aus 48—72 Stunden alten Kulturen durch destilliertes Wasser Substanzen extrahiert werden können, welche giftig für Meerschweinchen wirken und durch Antitoxin neutralisierbar sind.

Agarextrakt Saigon G	2	ccm peritoneal.	Meerschweinchen tot in 24 Std.
" " L	2	" "	" " " 24 "
" Saratow S 10	3	" "	" " " 24 "
" " " 10	2	" "	" " " 24 "
" " " 10	1	" "	" " " 24 "
" Cholera Pfeiffer 3	"	" "	" " " 72 "

Aus den vorangehenden Versuchen geht unzweifelhaft hervor, daß der Choleravibrio nicht nur endocelluläre Gifte enthält, wie man bisher angenommen hatte, sondern daß auch in Filtraten von Bouillonkulturen lösliche Gifte sich nachweisen lassen. Die nachfolgend mitgeteilten Untersuchungen werden lehren, daß diese endo- und extracellulären Gifte, welche durch ihre pathogenen Eigenschaften nicht als spezifisch zu charakterisieren sind, Antigene sind und daß man sie als Toxine des Choleravibrio ansehen muß.

Antitoxine des Choleravibrio.

Wie in der geschichtlichen Uebersicht auseinandergesetzt wurde, gelang es zuerst Metschnikoff, Roux und Salimbeni und gleichzeitig Ransom, Antitoxine Vibrionengiften gegenüber zu erzeugen. Früher haben wir ja bereits erörtert, daß man die Toxine dieser Autoren nicht mit Sicherheit als Cholera-toxine anerkennen kann, da die exakte Bestimmung der verwendeten Vibrionen nicht durchgeführt wurde. Immerhin lassen gewisse Momente es wahrscheinlich erscheinen, daß die Toxine von Metschnikoff, Roux und Salimbeni echten Cholera-toxinen entsprechen dürften.

Metschnikoff, Roux und Salimbeni haben mit dem Toxin Ziegen und Pferde behandelt. Von Meerschweinchen und Kaninchen konnten sie kein Antitoxin gewinnen. Auf die Injektion von Toxin kommt es zur Temperatursteigerung bis 40°. Auch Pferde reagieren trotz längerer Immunisierung mit Erhöhung der Körperwärme, die 1 Stunde nach der Injektion auftritt und nach 8—12 Stunden das Maximum erreicht. Lokal tritt ein Oedem auf, welches 5—6 Tage andauert. Nach 6 Monaten wurden dem Pferde auf einmal 200 ccm Toxin injiziert. Nach 3-monatlicher Immunisierung war das Serum in Mengen von 3 ccm wirksam, indem es die 1½-fache letale Dosis neutralisierte. Nach 6 Monaten (Gesamtmenge des injizierten Toxins 950 ccm) hat 1 ccm die 4-fach letale Dosis entgiftet. 1 ccm dieses antitoxischen Serums vermag auch gegen die einfach letale Dosis virulenter Kultur zu schützen. Interessant ist, daß Ransoms Serum sich gegen das Toxin von Metschnikoff, Roux und Salimbeni als wirksam erwiesen hatte, dagegen das Serum von Pfeiffer, welches einen hohen bakteriolytischen Titer hatte, ganz unwirksam war. Die Immunisierung mit lebenden oder abgetöteten Choleravibrionen halten die genannten drei Autoren nicht identisch mit der mit löslichen Toxinen.

Metschnikoff, Roux und Salimbeni nehmen zwar an, daß der Choleravibrio im Leib Toxine enthalte, diese aber bei Immunisierung mit Bakterien durch die Aufnahme der Bakterien in Phagocyten unwirksam gemacht werden. Das Serum, gewonnen mit Bakterien, wirke demnach bloß antiinfektiös, im Sinne von Metschnikoff Phagocytose-

befördernd und nicht antitoxisch. Wie aus den Versuchen von Brau und Denier und unseren mit Serum, gewonnen durch Injektion von Agarkulturen, hervorgehen wird, dürfte diese Auffassung nicht das Richtige treffen. Es wird bei der Immunisierung hauptsächlich darauf ankommen, ob man einen toxischen Stamm verwendet oder Kulturen, die wenig oder gar kein Toxin produzieren. Mit Agarkulturen toxinproduzierender Vibrionen wird antitoxisches Serum sowie auch bakteriolytisches und agglutinierendes gewonnen so wie mit den Filtraten der Bouillonkulturen. Mit Agarkulturen gar nicht oder nur schwach toxischer Cholera vibrien lassen sich hauptsächlich nur Immunkörper, die antiinfektiös (bakteriolytisch, bakteriotrop) und nur wenig antitoxisch wirken, darstellen.

Durch die Versuche von van Ermengem ist sicher dargetan, daß Pfeiffers bakteriolytisches Serum gegen die intestinale Infektion nicht schützt. Dasselbe Resultat erhielten auch Metschnikoff, Roux und Salimbeni. Dagegen haben weitere Versuche mit antitoxischem Serum es wahrscheinlich gemacht, daß intestinal infizierte Kaninchen durch präventive und gleichzeitige Injektion von Antitoxin geschützt werden können. Die folgende Tabelle gibt die Resultate der intestinalen Versuche von Metschnikoff, Roux und Salimbeni wieder.

	Behandelte Kaninchen		Kontrollen	
	tot	leben	tot	leben
Präventive Seruminjektion	12	15	31	6
Gleichzeitige Seruminjektion	10	8	16	5
	22 = 49 %	23 = 51 %	47 = 81 %	11 = 19 %

Wenn auch diese Autoren ihre Vibrionen als Cholera vibrien auffassen, so müssen wir doch bei objektiver Kritik den Standpunkt einnehmen, daß Antitoxine gegen die Gifte des Cholera vibrio zuerst von Brau und Denier beschrieben wurden. Gleichzeitig und unabhängig von ihnen haben Kraus und Pribram Antitoxine mit den Giften der 6 El Tor-Vibrionen, die biologisch mit dem Cholera vibrio identisch sind und von Gotschlich, Kolle und Gaffky als echte Cholera vibrien angesehen werden, darstellen können. Alle diese Arbeiten und auch die von Kraus und Prantschoff über Antitoxine verschiedenen Vibrionengiften gegenüber bringen den unzweifelhaften Beweis, daß pathogene Vibrionen Gifte produzieren, welche wir als Toxine charakterisieren müssen und welche wohl das pathogene Agens der Cholera asiatica und der Vibrionenerkrankungen bilden dürften. Damit ist eine ganz neue Auffassung über die Cholera asiatica gewonnen, welche nicht nur von theoretischer Bedeutung, sondern auch für die weiteren therapeutischen Fortschritte von größerer Wichtigkeit sein dürfte. Galt es ja bisher nach den Anschauungen Pfeiffers ganz allgemein, daß für gewisse Erkrankungen — Cholera, Typhus etc. — eine antitoxische Therapie ganz aussichtslos oder unmöglich sei, da die die Erkrankung auslösenden Gifte (Endotoxine) keine antigenen Eigenschaften besitzen.

Antitoxin, gewonnen mit Saigontoxin.

Die von Brau und Denier nachgewiesenen Antitoxine müssen ohne weiteres als Cholera antitoxine anerkannt werden, da die Vibrionen, welche zur Giftdarstellung benutzt wurden, als Cholera vibrien

charakterisiert sind. (Auch Brau und Denier sowie Metschnikoff, Roux und Salimbeni finden die Meerschweinchen zur aktiven Immunisierung ungeeignet. Es scheint, als ob diese Tierart gar kein Antitoxin zu produzieren im stande wäre. Kaninchen sind offenbar nach den Versuchen von Brau und Denier ebenso zur Immunisierung nicht verwendbar. Bessere Resultate erzielt man mit Ziegen, die schon in kurzer Zeit 100 ccm Toxin subkutan vertragen. Weniger empfiehlt sich die intravenöse Applikation, da nach einer derartigen Injektion von 4—5 ccm Gift Ziegen zu Grunde gehen können. Pferde sind für das Toxin noch empfindlicher als Ziegen.)

Das Serum vom immunisierten Pferd vermag in Mengen von $\frac{1}{50}$ ccm in vitro 2 letale Dosen nach $\frac{1}{2}$ -stündiger Einwirkung zu neutralisieren; $\frac{1}{20}$ ccm neutralisiert 3, 1 ccm Serum 4 letale Dosen. Bei getrennter Injektion (Toxin subkutan, Serum peritoneal) kann man noch 2 Stunden nach der Giftinjektion Heilwirkungen erzielen. Dieses Serum hat auch bakterizide, agglutinierende und präzipitierende Eigenschaften.

Im folgenden sind eigene Erfahrungen wiedergegeben, die wir über die Darstellung der Antitoxine und deren Wirksamkeit gewonnen haben.

Ueber Neutralisierbarkeit der Choleravibrionen mit Antitoxinen, gewonnen durch Immunisierung mit Saigongiften.

Das zu diesen Versuchen verwendete Serum wurde durch Immunisierung eines Pferdes (Kamee) gewonnen, welches durch längere Zeit hindurch subkutan Gifte der Saigonstämme in steigenden Dosen erhielt. Im ganzen wurden dem Pferde bis zum 8. Mai 1907 1451 ccm Gift injiziert.

Die Wirksamkeit des Serums wurde in der Weise geprüft, daß abfallende Mengen desselben zu der 2-fach tödlichen Dosis des Giftes gemischt zugesetzt und Meerschweinchen peritoneal injiziert wurden. Wie aus anderweitigen Versuchen, die hier nicht näher angeführt seien, hervorgeht, besitzt das Serum neben den zu besprechenden toxinneutralisierenden Eigenschaften noch ein bakteriolytisches, agglutinierendes und präzipitierendes Vermögen. Das Serum vom Pferde Kamee vermag die 1—2-fache tödliche Dosis für Meerschweinchen in Mengen von 0,5—0,2 ccm zu neutralisieren. Normale Sera, welche wir in genügender Zahl untersuchten, sind ebenso wie Sera von Pferden, die anderweitig immunisiert waren (Dysenterie, Typhus), nicht im stande, in Mengen von 1—0,5 ccm diese Toxindosen zu entgiften, auch wenn sie, wie eigens darauf gerichtete Versuche gelehrt haben, 1 Stunde lang mit dem Gift bei 37° gestanden hatten. Auffallend ist nur, daß der Wert des Serums Kamee trotz regelmäßig steigender und fast über 1 Jahr dauernder Giftinjektion in höheren Werten als 0,2 ccm nicht wirksam war. Bei einem anderen Pferde (Gemma), welches innerhalb von 5 Monaten 530 ccm Toxin erhielt, vermochte das Serum selbst in Mengen von 1 ccm die letale Dosis nicht zu neutralisieren. Dieser auffallenden Erscheinung, welche einen ganz evidenten Gegensatz zu den Diphtherie- und Tetanusantitoxinen bildet, begegnen wir nicht nur hier, sondern auch bei den Antitoxinen gegenüber den spezifischen El Tor-Giften und auch bei den Antitoxinen, welche mit Dysenterie- und Typhusgift gewonnen werden können. Daß es nicht bloß an der Tierart liegt und individuell bedingt sein könnte, geht noch daraus hervor, daß wir

auch von Ziegen, die in ähnlicher Weise immunisiert wurden, Sera mit höherem Titer nicht gewinnen konnten.

Tabelle I.
Wirkung normaler Pferdesera auf Saigontoxin.

Menge des Giftes	Menge des Serums	Art des Serums	Resultat
3 ccm Saigon K	0,5 0,1	Dysenterieserum „Jobst“	† nach 24 Stunden † „ 24 „
2 ccm Saigon K	0,5 0,1	Dysenterieserum „Komtesse“	do. do.
3 ccm Saigon L	0,5 0,1	Typhusserum „Karl“	do. do.
3 ccm Saigon G	0,5 0,1	Typhusserum „Janus“	do. do.

Tabelle II.
Wirkung des Serum „Kamee“ auf Saigontoxin.

Menge des Toxins	Aderlaßdatum	Menge des Serums	Resultat
3 ccm Saigon L	Vor der Immunisierung	1,0 0,5	† †
do.	23. Juni	1,0 0,5 0,3 0,1	lebt „ † †
2 ccm Saigon L	7. August	0,5 0,3 0,1	lebt „ †
do.	30. Oktober	0,5 0,3 0,1	lebt „ †
3 ccm Saigon L	16. April	0,5 0,3 0,1	lebt „ †
3 ccm Saigon G	4. Juni	0,5 0,2 0,1	lebt „ †

Ebenso wie auf die Saigongifte, wurde das mit Saigontoxin gewonnene Serum auf die Gifte der russischen und Hamburger Cholera vibrien hinsichtlich seines Neutralisationsvermögens geprüft. Wie folgendes Beispiel lehrt,

2 ccm Toxin Saratow + 0,5 ccm Serum Kamee (16. April 07) peritoneal. Meersch. lebt
 2 „ „ „ + 0,3 „ „ „ (16. „ 07) „ „ tot
 2 „ „ „ + 0,5 „ „ „ Janus (Typh.) „ „ „
 2 „ „ „ + 0,5 „ „ „ Karl („) „ „ „

neutralisiert das Serum vom Pferd Kamee auch das Toxin, gewonnen aus Kulturen russischer Cholera stämme, ebenso wie die Saigontoxine. Dasselbe gilt für die Gifte der Hamburger Stämme:

3 ccm Toxin Fernandez	+ 0,5 ccm Serum Kamee	(16. April 07)	peritoneal.	Meerschw.	lebt
3 " " "	+ 0,3 " " "	(16. " 07)	"	"	"
3 " " "	+ 0,5 " " "	Karl (Typh.)	"	"	tot
3 " " "	+ 0,5 " " "	Jobst (Dys.)	"	"	"
3 " " "	+ 0,5 " " "	Infant (Dys.)	"	"	"

Neben dem Serum, gewonnen mit Saigontoxinen, wurden auch Versuche angestellt mit einem Serum, gewonnen durch Immunisierung mit Bouillonkulturen des *Vibrio cholerae* Pfeiffer (Pferd Diana).

3 ccm Saigon L	+ 0,5 ccm Serum Diana	peritoneal.	Meerschweinchen	lebt
3 " " "	+ 0,3 " " "	"	"	"
3 " " "	+ 0,1 " " "	"	"	tot
3 " " "	+ 0,5 " Normalserum	"	"	"

Trotzdem es auch uns bisher nicht gelungen ist, in einwandsfreier Weise in Bouillonkulturen des *V. cholerae* Pfeiffer Gifte nachzuweisen, erhält man doch durch Immunisierung mit diesem *Vibrio* ein ebenso wirksames Serum wie durch Immunisierung mit den Saigongiften. Diese Tatsache dürfte wohl ihre Erklärung darin finden, daß der *Vibrio* Pfeiffer, wenn auch keine in Bouillonkulturen nachweisbaren Gifte erzeugt, so doch wie bereits Pfeiffer, später dann Macfadyen und Hahn gezeigt haben und unsere Versuche bestätigen, endogenes Gift enthält.

Ueber das Verhalten der Choleraantitoxine gegenüber den Toxinen andersartiger Vibrionen.

Daß es gelingt, mit den Giften der Choleravibrionen aktiv zu immunisieren und Antitoxine zu gewinnen, beweisen wohl zur Genüge die vorangehenden Versuche. Außerdem lassen sich aber, wie in einem späteren Kapitel gezeigt wird, diese Choleratoxine noch durch das Antitoxin, welches mit dem spezifischen El Tor-Gifte gewonnen ist, neutralisieren. Dagegen vermögen Antitoxine, gewonnen mit dem *Vibrio* Nasik und andersartigen Vibrionen (El Tor, non spec.), diese Choleratoxine nicht zu paralysieren. Die Neutralisationsversuche mit den hier besprochenen Choleraantitoxinen gegenüber anderen Vibrionen lehren ebenfalls, daß das mit Saigontoxin gewonnene Antitoxin, welches die zugehörigen Choleragifte zu neutralisieren vermag, die Gifte selbst sehr nahe verwandter oder biologisch entfernter stehender Vibrionen nicht zu beeinflussen im stande ist.

Tabelle III.

Menge und Art des intravenös injizierten Toxins	Menge des Serums Kamee	Tier	Resultat
1 ccm Toxin El Tor V	1,0 0,5 0,1	Kaninchen " "	+ in 10 Minuten + in 10 " + in 10 "
do.	1,0 0,5	" "	+ in 8 " + in 10 "
2 ccm Toxin Nasik	1,0 0,5	" "	+ in 12 " + in 10 "
1 ccm Toxin El Tor V	1,0 0,5	" "	+ in 10 " + in 10 "

Ebenso erwies sich das Serum unwirksam bei Peritonealversuchen an Meerschweinchen gegenüber dem El Tor-Gifte, wie nachstehender Versuch zeigt:

2 ccm El Tor-Toxin + 0,5 ccm Kamee peritoneal. Meerschweinchen tot.

Auch die Versuche mit dem Serum des Pferdes Diana, welches das Saigontoxin zu entgiften vermag, ergaben ein gleichlautendes Resultat:

1 ccm El Tor-Toxin + 2 ccm Diana peritoneal. Meerschweinchen tot.

Ueber sogenannte Antiendotoxine.

Daß die von Macfadyen mittels der Gefriermethode gewonnenen Gifte auch als Toxine anzusehen sind, wurde bereits erwähnt, allerdings müssen wir bemerken, daß nach der Mitteilung dieses Autors nicht festgestellt ist, ob er mit einem sicheren Cholera-vibrio gearbeitet hat. Mit diesem Vorbehalt seien hier die Versuche über die Antitoxine Macfadyens angeführt.

Zu seinen Immunisierungen verwendete er Kaninchen und Ziegen. Das Serum der vorbehandelten Kaninchen vermochte in Mengen von 0,5 ccm in vitro gemischt ($\frac{1}{2}$ Stunde bei 37°) die 10-fach letale Dosis für Meerschweinchen seines Endotoxins zu neutralisieren. Die Ziegen wurden intravenös behandelt. Trotzdem diese Tiere, wie früher erwähnt, für das Gift sehr empfindlich sind, konnte doch durch vorsichtige Dosierung eine aktive Immunisierung durchgeführt werden. Eine der Ziegen bekam jeden 7. Tag $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{10}$ und $\frac{1}{5}$ ccm Toxin und hat die steigenden Dosen trotz deutlicher Reaktion vertragen. 0,5 ccm dieses Serums entgiftete in vitro die 8-fach letale Dosis, erwies sich also bedeutend höherwertig als normales Ziegen Serum, das in derselben Menge nicht einmal gegen die 2-fach letale Dosis schützt. Eine zweite Ziege erhielt in wöchentlichen Intervallen Injektionen von $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{100}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{50}$, $\frac{1}{30}$, $\frac{1}{30}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{20}$, $\frac{1}{15}$, $\frac{1}{15}$, $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{12}$, $\frac{1}{3}$ ccm des Giftes. Nach 4-monatlicher Behandlung hat das Serum in Mengen von 0,002 ccm in vitro gemischt die 3-fach letale Dosis neutralisiert. Auch Hahn hat von einer Ziege, die mit Endotoxin durch 2 Monate vorbehandelt war, ein Serum gewonnen, welches in Mengen von 0,05 ccm die einfach letale Dosis in vitro gemischt entgiftet. Mit dem Pleuraexsudat der nach 7 Monaten zu Grunde gegangenen Ziege konnte Hahn die einfach tödliche Dosis Giftes in vitro durch Mengen von 0,025 ccm unschädlich machen.

Diese Versuche von Hahn und Macfadyen lehren, daß man auch mit den endogenen Giften der Cholera-vibrien giftneutralisierendes Serum (Antitoxin) gewinnen kann. In einem späteren Kapitel (El Tor-Antitoxin) werden wir zeigen, daß ein mit Agarkulturen gewonnenes Serum (El Tor) antitoxische Eigenschaften auch gegenüber den in Bouillonkulturen nachgewiesenen Giften aufweist¹⁾, hier wollen wir bloß darauf hinweisen, daß die von uns im Bakterienleib nachgewiesenen Gifte identisch sein dürften mit den in Bouillonkulturen gefundenen. Es lassen sich nämlich diese Agargifte durch antitoxisches Serum ebenso neutralisieren wie die löslichen. Durch

1) Das Serum „Diana“, gewonnen mit Bouillonkulturen des Cholera-vibrio Pfeiffer, wirkt, wie aus dem Vorangehenden ersichtlich ist, auch antitoxisch, indem es die löslichen Filtratgifte neutralisiert. Trotzdem der Cholera-vibrio Pfeiffer kein lösliches Gift produziert, ist sein endocelluläres Gift antigen. Dieses endocelluläre Gift vermag im Organismus Antitoxine hervorzurufen, welche die Exotoxine, die löslichen Filtratgifte, neutralisieren.

diese von Macfadyen, Hahn und uns mitgeteilten Versuche ist der vollständige Beweis für die Toxinnatur auch der endocellulären Toxine erbracht.

Alle diese Versuche sprechen nur in dem Sinne, daß der Cholera-vibrio ein toxisches Bakterium sei, daß demnach die Cholera asiatica als Toxikose ebenso aufzufassen sei. Diese nachgewiesenen Gifte sind nach alledem, was darüber jetzt vorliegt, nicht im Sinne Pfeiffers als endogene Gifte sui generis anzusehen, sondern als echte Bakterientoxine.

Ueber Heilversuche mit antitoxischem Serum.

Ein wesentlicher Grund für die Auffassung Pfeiffers, daß endocelluläre, nicht neutralisierbare Gifte als die Ursache der Vergiftung bei der Cholera asiatica anzunehmen sein müssen, war neben anderen noch der, daß es Pfeiffer schon kurze Zeit nach der Infektion nicht mehr gelingen wollte, mit seinem Serum Tiere am Leben zu erhalten, zu heilen. Wie eigene Versuche mit antitoxischem Serum lehren, gelingt es bei Meerschweinchen auch nicht bereits nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, die vorher injizierten Gifte oder lebenden Bakterien durch Antitoxine unschädlich zu machen; der folgende Versuch zeigt dies:

2 ccm Filtrat Saigon K + 0,3 ccm Serum Diana peritoneal. Meerschweinchen lebt
 2 " " " „ perit., nach 1 Stde 2 ccm Diana perit. Meerschweinchen tot
 1 " " " „ + 0,5 ccm Serum Kalif¹⁾ peritoneal. Meerschweinchen lebt
 1 " " " „ nach 1 Stde 3 ccm Serum Kalif periton. Meerschweinchen tot
 1 " " " " " 1 " 2 " " " " " "
 1 " " " " " 1 " 1 " " " " " "

Ganz gleiche negative Resultate wie bei Verwendung der Toxine im Heilversuch erhielten wir konform mit Pfeiffer bei Infektionsversuchen am Meerschweinchen trotz Anwendung großer Dosen antitoxischen Serums. Zu den Versuchen wurde der Cholerastamm Pfeiffer benützt, dessen Virulenz $\frac{1}{10}$ Oese betrug. Trotzdem das Serum, wie gesagt, antitoxisch und wie die eigens darauf gerichteten Untersuchungen gezeigt haben, auch bakteriolysisch (0,005, 0,001) war, gelang es nicht, die infizierten Tiere bei Anwendung der 5-fach letalen Dosis nach $\frac{1}{2}$ Stunde durch Antitoxin vor dem Tode zu retten.

$\frac{1}{2}$ Oese Cholera Pfeiffer perit., nach $\frac{1}{2}$ Stde 1 ccm Serum Diana perit. Meerschw. tot
 $\frac{1}{2}$ " " " " " $\frac{1}{2}$ " 1 " " " " " "

Aber selbst bei einem viel weniger rasch wirkenden Injektionsmodus, nämlich der subkutanen Injektion, gelang es uns auch nicht selbst durch Anwendung großer Dosen antitoxischen Serums Meerschweinchen zu schützen.

Tabelle IV.

Menge der Kultur subkutan	nach	Menge des Serums	Resultat
4 Oesen	1 Stunde	3,0 Kalif ¹⁾	+ nach 72 Stunden
4 " "	1 "	1,0 "	+ nach 48 "
4 " "	1 "	3,0 Kamee	+ nach 24 "
4 " "	1 "	1,0 "	+ nach 24 "
4 " "	—	Kontrolle	+ nach 6 "

Diese Resultate selbst mit antitoxischem Serum schienen im Sinne Pfeiffers zu sprechen. Wenn man aber in Erwägung zieht, daß die

1) „Kalif“ immunisiert mit El Tor-Toxin.

Intoxikation mit löslichem Toxin beim Meerschweinchen ebenso rasch wie die Infektion verläuft, so daß innerhalb 5—6 Stunden der Tod erfolgt, wäre zunächst auch daran zu denken, daß die negativen Resultate mit dem antitoxischen Serum in der rasch deletären Wirkung der Gifte gelegen sein dürften. Aus Versuchen von Kraus und Lipschütz haben wir ja erfahren, daß verschiedenartige Hämotoxine in Heilversuchen sich verschieden verhalten, indem sie verschieden neutralisierbar sind. Es konnte gezeigt werden, daß die Neutralisierbarkeit der Hämotoxine im Heilversuch nicht von dem zeitlichen Momente der Bindung abhängt, sondern von der Schädigung der Zelle selbst, welche durch die Gifte hervorgerufen wird. Ähnliches hat ja bereits Dönitz (20) in seinen bekannten Heilversuchen mit Diphtherie- und Tetanustoxin gezeigt. Die Hämotoxine der El Tor-Vibrionen lassen sich nach ganz kurzer Zeit selbst mit großen Antitoxinmengen im Heilversuch nicht neutralisieren. Die Heilwirkung des Antitoxins dürfte demnach wesentlich abhängig von der Empfindlichkeit der Zelle und dem zeitlichen Auftreten der Zellschädigung sein. Daß diese negativen Versuche nicht im Sinne Pfeiffers von der Unmöglichkeit der Neutralisierbarkeit der Cholera toxine zu verstehen sind, lehren noch Versuche, welche wir mit Multiplis von Gift und Kultur angestellt haben.

Multipla des Giftes lassen sich *in vitro* durch Multipla von Antitoxin neutralisieren. Ebenso können durch präventive Seruminjektionen 20—60-fache letale Dosen der Bakterien unschädlich gemacht werden. Es könnten demnach die angeführten negativen Heilversuche am Meerschweinchen ihren Grund nur darin haben, daß in kurzer Zeit das Gift im Meerschweinchen solche deletäre Veränderungen auslöst, daß eine nachträgliche Seruminjektion den Tod nicht mehr verhindern kann. Es wäre denkbar, daß die Unzulänglichkeit des Antitoxins hier nicht von seiner Unfähigkeit Toxin im Organismus zu entgiften abhängt, sondern von der großen Empfindlichkeit des Meerschweinchen diesem Gifte gegenüber.

Daß unsere Vermutung berechtigt erscheint, lehren Versuche, welche wir an Mäusen durchgeführt haben. Es hat sich gezeigt, daß Mäuse gegenüber dem Cholera gift viel weniger empfindlich sind als Meerschweinchen¹⁾. Es war zu erwarten, daß auch die Infektionsversuche an Mäusen günstigere Resultate ergeben dürften, als wir sie an Meerschweinchen verzeichnen. In der Tat zeigen die folgenden Versuche, welche in den Tabellen zusammengestellt sind, daß es gelingt, mit einem antitoxischen Serum (El Tor) noch nach 2 Stunden die mit der 3-fach letalen Dosis infizierten Mäuse am Leben zu erhalten.

Auswertung des Stammes Saigon G subkutan an Mäusen.

Menge der Kultur	Resultat
$\frac{1}{2}$ Oese	† nach 18 Stunden
$\frac{1}{4}$ "	† nach 24 "
$\frac{1}{10}$ "	krank, erholt sich
$\frac{1}{60}$ "	lebt

1) Man braucht relativ große Giftmengen und außerdem gehen die Mäuse auf die letale Dosis erst nach 24 Stunden zu Grunde.

Serum + Kultur ($\frac{1}{2}$ Oese = 0,001 g) gemischt, injiziert subkutan.

Serummenge	„Kalif“ (El Tor-Toxin)	„Kamee“ (Saigontoxin)	Serum I (Komtesse) (Dysenterie)	Serum II (Leutnant) (Dysenterie)
0,1 ccm	lebt	lebt	†	†
0,05 „	„	„	†	†
0,01 „	„	„	†	†
0,005 „	„	„	†	†
0,001 „	„	„	†	†
0,0005 „	„	„	—	—
0,0001 „	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

Heilversuch gegen subkutane Infektion (Kultur $\frac{1}{2}$ Oese). Serum-injektion intraperitoneal nach 1 Stunde.

Serummenge	„Kalif“	„Kamee“	Serum I (Komtesse)	Serum II (Leutnant)
0,5 ccm	lebt	lebt	†	†
0,1 „	„	„	†	†
0,05 „	„	„	—	—
0,01 „	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

Auswertung des Stammes Saratow S 10 subkutan an Mäusen.

Menge der Kultur	Resultat
$\frac{1}{2}$ Oese	† in 24 Stunden
$\frac{1}{4}$ „	† in 24
$\frac{1}{10}$ „	krank, erholt sich
$\frac{1}{50}$ „	lebt

Serum + Kultur ($\frac{1}{2}$ Oese) gemischt, subkutan injiziert.

Menge des Serums	Serum „Kalif“	Serum „Kamee“	Dysenterie-serum Komtesse	Dysenterie-serum Leutnant
0,1 ccm	lebt	lebt	†	†
0,05 „	„	„	†	†
0,01 „	„	„	†	†
0,005 „	„	„	†	†
0,001 „	„	„	†	†
0,0005 „	†	„	—	—
0,0001 „	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

Heilversuch gegen subkutane Infektion ($\frac{1}{2}$ Oese). Serum-injektion peritoneal nach 1 Stunde.

Menge des Serums	Serum „Kalif“	Dysenterie-serum Komtesse	Dysenterie-serum Leutnant
0,5 ccm	lebt	†	†
0,1 „	„	†	†
0,05 „	„	†	†
0,01 „	†	—	†
Kontrolle	†	†	†

Wie die vorangehenden Tabellen zeigen, hat das Serum Kalif, gewonnen mit El Tor-Toxin, und Serum Kamee, gewonnen mit Saigontoxin,

die Mäuse, welche 1 Stunde früher mit Cholera-vibrien infiziert waren, vor dem Tode geschützt. Die gleichzeitig angestellten Kontrolluntersuchungen zeigten, daß z. B. Dysenteriesera einen derartigen Effekt nicht hervorbringen können.

Ebenso wie es gelang, mit antitoxischem Serum gegen den Cholera-stamm Saigon zu schützen, kann man auch Mäuse, die mit dem russischen Cholera-vibrio Saratow S 10 infiziert waren, heilen.

Hiermit wäre bewiesen, daß antitoxische Sera nicht nur Toxin zu neutralisieren im Stande sind, sondern auch eine Infektion zu beeinflussen vermögen. Diese Versuche, wie wir glauben, sind so einwandfrei, daß sie ohne weiteres als eine experimentelle Grundlage für eine antitoxische Cholera-therapie anzusehen sein dürften ¹⁾.

Das Toxin der 6 El Tor-Vibrien.

Charakterisierung der Vibrien.

F. Gotschlich hat, wie aus seinem Berichte hervorgeht, im Sommer 1905 107 Leichen von Mekkapilgern, die keine Zeichen der Cholera asiatica gezeigt hatten, bakteriologisch untersucht und konnte in 38 Fällen Vibrien aus dem Darminhalt züchten. Von diesen Vibrien haben 6 Stämme kulturell und biologisch alle Charaktere des Cholera-vibrio gezeigt. Auf Grund dieser Eigenschaften hat Gotschlich und mit ihm Gaffky, Kolle und Meinicke diese Vibrien als Cholera-vibrien erklärt. Die Tatsache, daß beim Menschen, der nicht an Cholera asiatica erkrankt ist, im Darminhalt der Cholera-vibrio gefunden werden kann, hat nichts Merkwürdiges an sich. Wissen wir ja seit den Untersuchungen von Dönitz und Kolle, daß Cholera-rekonvaleszenten bis zu 50 Tagen nach Ablauf der klinischen Erscheinungen Träger von Cholera-vibrien sein können. Auch hier wird angenommen, daß die betreffenden Mekkapilger in ihrer Heimat oder durch den Verkehr mit cholera-kranken Menschen auf dem Wege nach Hedjaz zu Cholera-trägern geworden sind. Der Annahme, daß die Vibrien von Cholera-rekonvaleszenten stammen, widerspricht jedoch der Bericht des Herrn Dr. Osborne, wonach einige der 6 in Frage kommenden Pilger aus Ländern stammen, wo seit Jahren keine Cholera mehr existiert. Aber auch Prochnik hat seine Bedenken gegen diese Auffassung Gotschlichs in einem Artikel „Cholera-vibrien ohne Cholera“ ausführlich dargelegt ²⁾.

1) Ueber die Resultate der Wirkung des Serums an Menschen wird demnächst berichtet. Durch freundliche Vermittlung des Herrn Dr. Zabolotny wurde das Serum bei der jetzigen Epidemie in Rußland versucht.

2) Ruffer, Brit. med. Journ. 1907 schließt sich vollkommen unserer Auffassung über die El Tor-Vibrien an.

(Schluß folgt.)

Nachdruck verboten.

Ueber Hämolyse beschleunigende Immunsustanzen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr. (Direktor: Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer) und dem Institut für medizinische Pathologie der Universität Pavia (Direktor: Prof. Devoto).]

Von **E. Friedberger** und **C. Moreschi**¹⁾.

Wenn man ein Tier der Species A mit einem Immunserum behandelt, das auf seine eigenen Erythrocyten hämolytisch wirkt, so muß diese Behandlung entsprechend den Voraussetzungen der Theorie Ehrlichs zur Bildung von Hemmungskörpern von Antiambozeptoren führen.

So erhält man in der Tat, wenn man z. B. eine Ziege mit hämolytischem Serum eines mit Ziegenblut vorbehandelten Kaninchens spritzt, ein derartiges Antiambozeptorserum, das wir nach unseren früheren Untersuchungen als gegen die cytophile Ambozeptorgruppe gerichtet ansehen.

Man sollte annehmen, daß hier ein allgemein gültiges Gesetz vorliegt, daß auch bei jeder anderen Tierspecies die Injektion hämolytischen Serums die Bildung von „Antiambozeptoren“ auslöst.

In Fortsetzung unserer Versuche über die sogenannten Antiambozeptoren sind wir jedoch bei anderen Tierspecies auf ganz andere höchst merkwürdige und unerwartete Tatsachen gestoßen.

Wenn man nämlich Kaninchen mit einem für Kaninchenblut hämolytischen Ziegenserum behandelt, so sollte man a priori ein derartiges Antiambozeptorserum erwarten, indem die Ambozeptoren des Ziegen-

Tabelle I.

Beschleunigung der Hämolyse durch das Serum des Kaninchens 48, vorbehandelt mit Serum einer Ziege IV, die mit gewaschenen Kaninchenblutkörperchen gespritzt war.

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen, beladen mit 0,006 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter	Kaninchenserum 48	Komplement (normales Meer-schweinchenserum)	Resultat der Hämolyse
1 ccm	0,0001	0,1	0 nach 10 Min.
1 „	0,0005	0,1	Spur nach 10 Min.
1 „	0,001	0,1	fast kompl. nach 10 Min.
1 „	0,005	0,1	komplett nach 5 Min.
1 „	0,01	0,1	do.
1 „	0,05	0,1	do.
1 „	0,1	0,1	do.
Kontrolle			
1 ccm	—	0,1	0 nach 30 Min.
1 „	0,1 Normal-kaninchenserum	0,1	komplett nach 2 Std. do.

2 Stunden bei 37°, dann zentrifugiert;
Bodensätze in je 2 ccm physiologischer
Kochsalzlösung.

Zimmertemperatur 23°.

1) Vorgetragen in Sektion I des XIV. internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie in Berlin.

Tabelle Ia.

Als beschleunigendes Serum diente das Serum eines Kaninchens 66, wie Kaninchen 48 behandelt.

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen, beladen mit 0,006 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter	Kaninchenserum 66	Komplement (normales Meer-schweinchenserum)	Resultat
1 ccm	0,0001	0,1	fast komplett nach 2 Std.
1 "	0,0005	0,1	do.
1 "	0,001	0,1	fast kompl. nach 35 Min.
1 "	0,005	0,1	komplett nach 15 Min.
1 "	0,01	0,1	do.
1 "	0,05	0,1	komplett nach 5 Min.
1 "	0,1	0,1	komplett nach 4 Min.
Kontrolle			
1 ccm	—	0,1	0 nach 1 Std.; fast komplett nach 2 Std.
1 "	0,1 Normal-kaninchenserum	0,1	do.

2 Stunden bei 37°, dann zentrifugiert;
Bodensätze in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Zimmertemperatur 18°.

immunserums gerade in den Rezeptoren des Kaninchenblutes passende Gruppen finden müssen, die zur Entstehung jener Antiambozeptoren führen.

Das Serum eines so behandelten Kaninchens, zu beladenen Blutkörperchen zugesetzt, bewirkt jedoch bei Komplementzusatz keine Hemmung, sondern im Gegenteil eine Beschleunigung der Hämolyse. Die Lösung der Erythrocyten, die unter Verwendung nicht zu hoher Ambozeptordosen für gewöhnlich, namentlich bei Zimmertemperatur, sich in Kontrollversuchen 1 Stunde und länger hinzieht, ist bei Zusatz geringer Mengen (bis $\frac{1}{10}$ mg) dieses Antiziegeneiweiß-Kaninchenserums in wenigen Minuten vollendet.

Das Resultat ist das gleiche, wenn an Stelle beladener Erythrocyten unbeladene + Immunserum verwendet werden; nur tritt hier die Differenz mit dem Kontrollversuch nicht so scharf hervor.

Tabelle II.

Beschleunigung durch das Kaninchenserum 66, bei Verwendung unbeladener Blutkörperchen im Vergleich zu beladenen. Versuchsanordnung wie in Tabelle I.

Menge des Serums 66	Resultate	
	mit beladenen Blutkörperchen	mit unbeladenen Blutkörperchen + Ambozeptor
0,001	komplett nach 15 Min.	komplett nach 50 Min.
0,01	komplett nach 10 Min.	komplett nach 35 Min.
0,1	komplett nach 5 Min.	komplett nach 25 Min.
Kontrolle		
—	komplett nach 2 Std.	komplett nach 2 Std.
0,1 Normal-kaninchenserum	do.	do.

Verwendet man zur Vorbehandlung der Kaninchen an Stelle des Ziegenimmunambozeptors für Kaninchenblut Normalziegenserum, so erhält man gleichfalls die beschleunigende Wirkung.

Tabelle III.

Beschleunigung der Hämolyse durch das Serum des Kaninchens 73, mit Normalziegenserum vorbehandelt.

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen, beladen mit 0,006 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter	Kaninchenserum 73	Komplement (normales Meerschweinchenserum)	Resultat der Hämolyse
1 ccm	0,00001	0,1	deutlich nach 1 Std.
1 "	0,00005	0,1	do.
1 "	0,001	0,1	do.
1 "	0,0005	0,1	do.
1 "	0,001	0,1	komplett nach 25 Min.
1 "	0,005	0,1	do.
1 "	0,01	0,1	komplett nach 15 Min.
Kontrolle	—	0,1	deutlich nach 1 Std.
1 ccm	0,1 Normalkaninchenserum	0,1	do.
1 "			

2 Stunden bei 37°, dann zentrifugiert; Bodensätze in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung

Zimmertemperatur 22°.

Die Wirkung ist eine streng spezifische, indem das Serum des mit Ziegen-eiweiß behandelten Kaninchens ausschließlich auf den für Kaninchenblut hämolytischen Ambozeptor der Ziege beschleunigend wirkt.

Die Beschleunigung bleibt aus bei Verwendung der Kombination: Kaninchenblut-Menschenambozeptor oder Kaninchenblut-Meerschweinchenambozeptor.

Tabelle IV.

Verwendung von Menschenambozeptoren für Kaninchenblut an Stelle von Ziegenambozeptoren; als beschleunigendes Serum diente Serum des Kaninchens 48 (s. Tabelle I).

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblut, beladen mit 0,05 Menschen-serum	Kaninchen-serum 48	Komplement (normales Meerschweinchenserum)	Resultat nach			
			20'	30'	40'	60'
1 ccm	0,0001	0,1	0	Spuren	deutlich	komplett
1 "	0,0005	0,1	0	"	"	"
1 "	0,001	0,1	0	"	"	"
1 "	0,005	0,1	0	"	"	"
1 "	0,01	0,1	0	"	Spuren	"
1 "	0,05	0,1	0	"	"	"
1 "	0,1	0,1	0	"	0	fast komplett
Kontrolle	—	0,1	0	"	deutlich	komplett
1 ccm	0,1 Normalkaninchen-serum	0,1	0	"	"	"
1 "						

2 Stunden bei 37°, dann zentrifugiert; Bodensätze in je 2 ccm physiologischer Kochsalzlösung.

Zimmertemperatur 20°.

Tabelle V.

Versuchsordnung wie in Tabelle IV; nur Verwendung von Meerschweinchenambozeptor (Serum eines 3mal mit je 2 ccm gewaschenem Kaninchenblut subkutan behandelten Meerschweinchens).

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblut, beladen mit 0,01 Meerschweinchenambozeptoren	Kaninchenserum 48	Komplement (normales Meerschweinchenserum)	Resultat
1 ccm	0,0001	0,1	Überall gleichmäßig komplette Lösung nach 1 Stunde
1 "	0,0005	0,1	
1 "	0,001	0,1	
1 "	0,005	0,1	
1 "	0,01	0,1	
1 "	0,05	0,1	
1 "	0,1	0,1	
Kontrolle 1 ccm	—	0,1	

Dagegen erfährt unsere Kombination: Kaninchenblut-Ziegenambozeptor eine geringe Beschleunigung mit Antimenscheneiweißserum vom Kaninchen.

Tabelle VI.

Beschleunigung der Hämolyse durch das Serum des Kaninchens 67, mit Menschen-eiweiß vorbehandelt.

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblut, mit 0,006 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter beladen	Kaninchenserum 67	Komplement (normales Meerschweinchenserum)	Resultat der Hämolyse
1 ccm	0,0001	0,1	deutlich nach 35 Min.
1 "	0,0005	0,1	do.
1 "	0,001	0,1	do.
1 "	0,005	0,1	do.
1 "	0,01	0,1	fast komplett nach 30 Min.
1 "	0,05	0,1	komplett nach 10 Min.
1 "	0,1	0,1	komplett nach 5 Min.
Kontrolle 1 ccm	—	0,1	deutlich nach 35 Min.
1 "	Normales Kaninchenserum	0,1	do.

Wenn man beladene Blutkörperchen mit dem beschleunigenden Serum in Kontakt läßt, nach 2 Stunden zentrifugiert, so zeigt sich eine Verankerung der beschleunigenden Substanz, indem nunmehr die Beschleunigung der Hämolyse nach Entfernung des überschüssigen beschleunigenden Serums bei Komplementzusatz gleichfalls zu Tage tritt. Ja, die Beschleunigung ist in diesem Falle noch eklatanter als bei Gegenwart des vollständigen beschleunigten Serums, so daß wir zu der Annahme kommen, daß die hemmenden Substanzen, welche ja die meisten Normalsera besitzen, das Phänomen bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung teilweise verschleiern.

Unbeladene oder mit Normalserum beladene Blutkörperchen erfahren durch den Kontakt mit beschleunigendem Serum bei nachherigem Zusatz von entsprechenden Ambozeptormengen und Komplement keine Beschleunigung ihrer Hämolyse.

Danach ist also a priori anzunehmen, daß die beladenen Blutkörperchen im Gegensatz zu den unbeladenen oder mit Normalserum beladenen die beschleunigende Substanz verankern, in analoger Weise wie die Verankerung der Antikörper durch die entsprechenden Antigene erfolgt. In diesem Falle müßte nach dem Kontakt mit den beladenen Blutkörperchen wie dort die beschleunigende Substanz dem Serum entzogen sein.

Dies trifft jedoch nicht, wenigstens nicht in dem erwarteten Umfange, zu. Bei der gewöhnlichen Versuchsanordnung ist eine Verarmung an beschleunigenden Substanzen überhaupt nicht nachweisbar; erst bei Ver-

Tabelle VII.

Ausfällung des beschleunigenden Kaninchenserums 48 mit beladenen Blutkörperchen.

Zur Ausfällung werden 10 ccm einer Verdünnung $\frac{1}{10}$ des Serums 48 3mal hintereinander je 2 Stunden bei 37° mit dem Bodensatz von je 10 ccm einer 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung, die pro Kubikcentimeter mit 0,01 Serum Ziege IV beladen war, behandelt. (Im ganzen sind also die 10 ccm Serum 48, 1:10, mit 30 ccm beladener Kaninchenblutkörperchen in Kontakt gewesen).

Nach dieser Ausfällung wird in der gewöhnlichen Versuchsanordnung die beschleunigende Kraft geprüft, ebenso wie früher gegenüber einem hämolytischen System von 5-proz. Kaninchenblutkörperchenaufschwemmung pro Kubikcentimeter mit 0,006 Serum Ziege IV beladen.

Zum Vergleich wird eine Versuchsreihe mit nicht ausgefälltem Serum des Kaninchens 48 angestellt.

Menge des Serums 48, ausgefällt resp. nicht ausgefällt	Resultat mit			
	ausgefälltem Serum		nicht ausgefälltem Serum	
0,0001	n. 30 Min. 0	n. 1 St. Spuren	n. 30 Min. 0	n. 1 St. Spuren
0,0002	n. 30 Min. Spuren	n. 1 St. deutlich	do.	do.
0,0004	n. 30 Min. deutlich	n. 1 St. fast kompl.	do.	do.
0,001	nach 5 Min. fast komplett		nach 20 Min. deutlich	
0,002	nach 5 Min. komplett		nach 8 Min. deutlich	
0,004	do.		nach 8 Min. fast komplett	
0,006	do.		nach 8 Min. komplett	
0,008	do.		do.	
0,01	do.		do.	
Kontrollen nach 30 Min. 0				
nach 1 Std. Spuren.				

Tabelle VIII.

Versuchsanordnung wie in Tabelle VII; nur wurden an Stelle von mit Immunserum beladenen Kaninchenblutkörperchen mit Normalziegenserum beladene zur Ausfällung des Kaninchenserums 48 benutzt.

Menge des Serums 48, ausgefällt resp. nicht ausgefällt	Resultat mit	
	ausgefälltem Serum	nicht ausgefälltem Serum
0,0001	nach 30 Min. 0	nach 30 Min. 0
0,0002	nach 30 Min. Spuren	nach 30 Min. Spuren
0,0004	nach 30 Min. deutlich	nach 30 Min. deutlich
0,001	nach 5 Min. fast kompl.	nach 5 Min. fast kompl.
0,002	nach 5 Min. komplett	nach 5 Min. komplett
0,004	do.	do.
0,006	do.	do.
0,008	do.	do.
0,01	do.	do.

wendung großer Mengen reichlich beladener Blutkörperchen ist eine sehr geringe Abnahme des Serums an beschleunigenden Substanzen zu konstatieren.

Die beschleunigenden Substanzen vertragen eine Erhitzung auf 68° durch 1 Stunde, ohne daß eine erhebliche Abnahme erfolgt.

Durch 75° werden sie völlig zerstört. Die phenolversetzten, kühl aufbewahrten Sera behalten ihre beschleunigende Wirkung.

Tabelle IX.

Verhalten des beschleunigenden Serums gegenüber höheren Temperaturen.

5-proz. Aufschwemmung von Kaninchenblutkörperchen, beladen mit 0,006 Serum Ziege IV pro Kubikcentimeter	Kaninchen-serum 66	Komplement (normales Meer-schwein-chenser.)	Resultat mit Serum 66		
			1 Std. 75°	1 Std. 68°	unerhitzt
1 ccm	0,0001	0,1	0 n. 40 Min.	0 nach 40 Min.	0 nach 40 Min.
1 "	0,0005	0,1	do.	do.	do.
1 "	0,001	0,1	do.	do.	deutl. n. 25 Min.
1 "	0,005	0,1	do.	do.	kompl. n. 25 Min.
1 "	0,01	0,1	do.	deutl. n. 25 Min.	kompl. n. 20 Min.
1 "	0,05	0,1	do.	kompl. n. 20 Min.	kompl. n. 10 Min.
1 "	0,1	0,1	do.	kompl. n. 10 Min.	kompl. n. 5 Min.

Das von uns beobachtete Beschleunigungsphänomen ist zunächst nur theoretisch von Interesse; es dürfte aber praktische Bedeutung erlangen, wenn es gelingt, die Tatsachen, die wir auf dem Gebiete der Hämolyse gefunden haben, auf die Bakteriolyse zu übertragen.

Eine Erklärung für das Phänomen steht noch vollkommen aus.

Vor allem ist es ganz unverständlich, weshalb das Antieiweißserum einer Tierspecies (Kaninchen für Ziege) beschleunigend wirkt, das einer anderen (Ziege für Kaninchen) unter ganz analogen Versuchsbedingungen nicht.

Solange diese prinzipielle Differenz nicht aufgeklärt ist, lohnt es sich nicht, theoretische Erklärungen, die sich nach dieser oder jener Richtung wohl aufdrängen, zu versuchen.

Nur auf die Ähnlichkeit unseres Phänomens in vitro mit einer derzeit im Vordergrund des Interesses stehenden Erscheinung in vivo sei kurz hingewiesen.

Wir meinen das von Theobald Smith sowie Arthus zuerst näher studierte Phänomen der Ueberempfindlichkeit oder Anaphylaxie.

Auch hier finden wir beim Zusammentreffen von Eiweiß- und Antieiweißserum im Tierkörper die außerordentliche Beschleunigung einer in ihrem Wesen noch nicht geklärten Reaktion, welche in den bekannten stürmischen Symptomen zu Tage tritt und meist den Exitus des Versuchstieres herbeiführt.

Wir wollen noch ausdrücklich betonen, daß gerade das Kaninchen besonders leicht Ueberempfindlichkeit bei Behandlung mit Ziegen-eiweiß zeigt; auch unsere mit dem Ziegenimmunserum für Kaninchenblut, aber auch die mit Normalziegenserum behandelten Tiere erlagen fast regelmäßig nach wenigen Injektionen unter dem Symptomenbild der Anaphylaxie.

Dagegen scheint die Ziege für das Kanincheneiweiß weniger empfänglich zu sein; wenigstens hat bei uns eine Ziege, die Monate hindurch mit Serum eines mit Ziegenblut gespritzten Kaninchens behandelt wurde, und eine zweite mit Normalkaninchenserum behandelte die Einspritzungen gut vertragen.

Weitere Untersuchungen sollen uns darüber Aufklärung geben, inwieweit auch bei Verwendung anderer Tierspecies in analogen Versuchen das Phänomen der Anaphylaxie und der Beschleunigung der Hämolyse in vitro parallel gehen.

Nachdruck verboten.

Ueber die Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Königsberg i. Pr.
(Direktor: Geheimrat R. Pfeiffer).]

Von Privatdozent Dr. E. Friedberger und Dr. E. Pinczower.
Assistent am Institut.

Es ist bekannt, daß den spezifischen Antikörpern im Gegensatz z. B. zu den Komplementen eine relativ hohe Resistenz gegenüber thermischen, chemischen und anderen Schädigungen zukommt. Die beiden Komponenten, aus denen die betreffenden Antikörper nach unseren Vorstellungen von deren Bau bestehen, verhalten sich untereinander wieder graduell verschieden in Bezug auf diese Noxen. Die bindende Gruppe z. B. des Agglutinins, Präzipitins etc. ist im allgemeinen bedeutend resistenter als die funktionelle, d. i. die die sichtbare Fällung bewirkende Gruppe. Doch wissen wir, daß es unter dem Einfluß höherer Temperaturen — etwa 70–80° — gelingt, auch die bindende Gruppe zu zerstören. Bei unserer vollkommenen Unkenntnis über das eigentliche Wesen der Antikörper erscheint jede Tatsache von Interesse, die uns neue Aufschlüsse über das physikalische Verhalten dieser Körper zu gewähren vermag.

Gelegentlich der Untersuchungen über die Fäulnisresistenz der Präzipitate (dies. Centralbl. Bd. XLIII. p. 490) hat Friedberger die aprioristische Annahme gemacht, daß die Widerstandsfähigkeit der Präzipitate gegenüber der Fäulnis (dieselbe ist, wie hier beiläufig erwähnt sein mag, bereits 10 Monate lang unverändert geblieben) darauf beruhe, daß diejenige Gruppe des Eiweißkomplexes, in welche das von den Bakterien erzeugte, die stinkende Fäulnis bewirkende fermentative Agens für gewöhnlich eingreift, von dem Präzipitin besetzt ist. Dem schien die Tatsache zu widersprechen, daß auch gekochte Präzipitate die gleiche Fäulnisresistenz selbst nach der Impfung mit Faulflüssigkeit zeigen. Da uns bekannt ist, daß beim Erhitzen auf Siedetemperatur das Präzipitin eines Antieiweißserums vollständig zerstört wird, also auch neben der fällenden die bindende Gruppe vernichtet wird, so war entweder die vorhergehende Annahme unrichtig oder man mußte vermuten, daß der einmal an das Antigen gebundene Antikörper in Bezug auf seine Thermoresistenz sich ganz anders verhielt als der frei im Serum befindliche.

Da diese Frage uns mit Rücksicht auf die Natur der Antikörper

überhaupt nicht unwichtig erschien, gingen wir daran, sie einer besonderen experimentellen Prüfung zu unterziehen.

Wir stellten die Versuche zunächst an Agglutininen mit Rücksicht auf die Möglichkeit einer exakteren Auswertung an, glauben aber, daß bei dem vollkommenen Parallelismus, der zwischen Agglutinin, Präzipitin und den homologen Antigenen besteht, unsere Resultate auch für die Präzipitine zu Recht bestehen.

Wir benutzten zu den Agglutinationsversuchen den von Friedberger und Moreschi (Berl. klin. Wochenschr. 1905) ausführlich beschriebenen, gut agglutinablen Typhusstamm Gießen und als Serum ein Pferdeserum vom Titer 3200.

Plan der Versuche: Es galt uns festzustellen, ob mit Agglutinin vollständig beladene Bakterien nach dem Erhitzen auf 100° noch im stande seien, von neuem einem agglutinierenden Serum Agglutinin zu entziehen. Dies wäre ein Beweis gewesen für die vollständige Zerstörung auch der bindenden Gruppe des Agglutinins. Es ist ja andererseits bekannt, daß native, auf 100° erhitzte Bakterien noch Agglutinin zu binden vermögen, wenn auch die funktionelle Gruppe des Bakteriums zerstört wird, so daß keine sichtbare Fällung mehr zu stande kommt.

Ehe wir daran gingen, das Verhalten der gebundenen Agglutinine bei der Erhitzung zu ermitteln, stellten wir nochmals einen Versuch darüber an, inwieweit unser agglutinierendes Pferdeserum durch die Temperatur von 100° alteriert würde, ob hier das Agglutinin auch in seiner bindenden Gruppe völlig vernichtet würde. 10 ccm Serum $\frac{1}{1000}$ werden $\frac{1}{4}$ Stunde lang auf 100° erhitzt und mit einer Oese Typhus versetzt: Es findet keine Agglutination statt. Nach unseren Voraussetzungen können aber auch die Bakterien kein Agglutivid mehr dem Serum entziehen, da ja das Agglutinin vollständig zerstört sein soll. Beweis: Die abzentrifugierten Bakterien zu 1 ccm frischen Serums $\frac{1}{3000}$ zugesetzt sind noch agglutinabel. Die obenstehende Flüssigkeit ist frei von Agglutinin. Die Bakterien haben also in dem 100°-Serum ihre Rezeptoren nicht verstopft.

Ausführung der Versuche: Eine auf 60° 2 Stunden lang erhitze¹⁾ Typhuskultur Gießen wurde in Kochsalzlösung aufgeschwemmt und mit agglutinierendem Pferdeserum so lange behandelt, bis sämtliche entsprechenden Bakteriengruppen mit Agglutinin vollständig beladen waren. Diese Tatsache stellten wir auf folgende Weise fest. Die abzentrifugierten, gut gewaschenen, beladenen Bakterien wurden mit 10 ccm Serum, das pro Kubikcentimeter 5 Agglutinineinheiten enthielt, verdünnt und $\frac{1}{2}$ Stunde lang bei 37° in Kontakt gelassen. Danach wurde abzentrifugiert. Die obenstehende Flüssigkeit wurde austitriert. Sie hatte ihren ursprünglichen Titer bewahrt. Die zugesetzten Bakterien hatten kein Agglutinin entzogen, sie waren also vollständig beladen. Nachdem so die vollständige Absättigung aller Agglutininrezeptoren unseres Bakteriensediments konstatiert war, wurde nochmals mit physiologischer Kochsalzlösung sorgfältigst gewaschen. Die gewaschenen Bakterien wurden in 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Gleichzeitig wurde eine frische, gleich stark bewachsene, native Typhusagarkultur in 5 ccm Kochsalzlösung emulsiioniert: Beide Emulsionen wurden für $\frac{1}{4}$ Stunde in Wasser von 100° Temperatur gebracht. Darauf

1) Die vorherige Erhitzung geschah, um eine unkontrollierbare störende Vermehrung der Keime während des Versuches auszuschließen.

wurde abzentrifugiert, die Bodensätze in Kochsalzlösung sorgfältig gewaschen und jeder in je 5 ccm physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt. Je 1 ccm = $\frac{1}{5}$ Kultur wurde mit dem agglutinierenden Serum verschiedener Konzentration (1—12-fach) versetzt. Nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Kontakt bei 37° wurde abzentrifugiert und die obenstehende Flüssigkeit wurde mit Hilfe frischer Kultur auf den Verbleib des Agglutinins untersucht. Wenn durch das Kochen in der Serie, in der die Ausfällung mit beladenen Bakterien stattgefunden hat, das Agglutinin vollständig zerstört war, so hätte sich hier die obenstehende Flüssigkeit genau so verhalten müssen wie bei der Kontrollserie mit unbeladenen 100%-Bakterien. Das war jedoch nicht der Fall; selbst in dem Versuche, in dem nur eine Agglutinineinheit den gekochten und beladenen Bakterien zugesetzt war, zeigte der Abguß nach dem Zentrifugieren mit frischen Bakterien vollständige Agglutination. Es waren also nachweisbare Mengen des Agglutinins nicht entzogen worden. Dagegen war in der Serie, in der die Ausfällung mit nativen gekochten Bakterien stattgefunden hatte, durch $\frac{1}{5}$ Kultur selbst die 12-fache Agglutininmenge entzogen; die obenstehende Flüssigkeit, mit einer Oese Typhuskultur versetzt, zeigte keine Agglutination mehr.

Die Versuche führen also zu dem Schlusse, daß die einmal an die Bakterien gebundenen Agglutinine auch in ihrer bindenden Gruppe gegenüber der Erhitzung resistent geworden sind.

Eine Erklärung für dieses eigentümliche Verhalten vermögen wir nicht zu geben. Will man sich eine grobmechanische Vorstellung bilden, so könnte man annehmen, daß die bindende Gruppe gewissermaßen in dem sie umgebenden Bakterienleib eine Schutzhülle habe. Es ist jedoch andererseits nicht anzunehmen, daß bei der $\frac{1}{4}$ Stunde andauernden Erhitzung auf 100° sich der zerstörende Einfluß der Temperatur nicht ebenso geltend machen sollte wie bei der Erhitzung eines verdünnten agglutinierenden Serums. Mehr einleuchtend erscheint uns die Annahme, daß durch die Verankerung an das Antigen eine neue Verbindung Antikörper-Antigen geschaffen wird, welche koktostabil ist.

Entsprechende Versuche mit Hämolsinen bei Innehaltung einer analogen Versuchsanordnung scheiterten leider daran, daß im Gegensatz zu den Bakterien die auf 100° erhitzten unbeladenen Erythrocyten ihr Bindungsvermögen ebenso verloren hatten wie die beladenen. Auf diesen prinzipiellen Unterschied zwischen Bakterienzellen und Blutkörperchen möchten wir hier noch kurz hinweisen. Es sei noch erwähnt, daß auch der unbekannte Lyssaerreger, wie das Friedberger und v. Eissler (dies. Centralbl. Bd. XLIV. p. 695) nachgewiesen haben, durch Erhitzung auf 100° sein Bindungsvermögen für rabizides Serum einbüßt, sich also in analoger Weise verhält wie das tierische rote Blutkörperchen im Gegensatz zur pflanzlichen Bakterienzelle, die durch Erhitzung auf 100° ihre bindenden Gruppen nicht verliert.

Nachdruck verboten.

Ueber Pyocyanase.

[Aus dem bakteriologischen Laboratorium der Stadt Cöln (Direktor: Dr. Czaplewski).]

Von P. Bermbach, Cöln.

Pyocyanase ist das aus älteren Kulturen des *Bacillus pyocyaneus* gewonnene Enzym. Es wurde zuerst hergestellt und studiert von Emmerich¹⁾. Dank der gütigen Vermittelung dieses Herrn überließ mir das Dresdener chemische Laboratorium Lingner ein Quantum Pyocyanase, mit dem ich im bakteriologischen Laboratorium der Stadt Cöln einige Versuche gemacht habe, über die ich hier berichten möchte. Es drängt mich, vorher dem Leiter dieses Laboratoriums, Herrn Kollegen Czaplewski, für sein großes Entgegenkommen auch hier herzlichst zu danken.

Die Pyocyanase stellt eine schwarzbraune, etwas dickliche Flüssigkeit dar von eigentümlich stickigem, düngerartigem Geruch. Beim Kochen in wässriger Lösung tritt nach Zusatz von Kali-(Natron-)lauge Gerinnung ein; gleichzeitig wird die Lösung heller. Die Coagula lösen sich aber in destilliertem Wasser oder in Säure ziemlich schnell wieder auf. In Wasserstoffsuperoxyd entwickelt die Pyocyanase lebhaft Sauerstoff, wie das starke Aufschäumen der Flüssigkeit und das Aufglühen eines dem Schaum genäherten glimmenden Holzspans zeigen. Beim Schütteln mit Pyocyanase nimmt Xylol eine graubräunliche Farbe und schaumige Beschaffenheit an; Chloroform färbt sich schwach blaugrün; zu letzterem zugesetzte Kali-(Natron-)lauge färbt sich gelbgrün, während das Chloroform selbst entfärbt wird. Die Kali-(Natron-)lauge bildet überhaupt durch die entstehende schöne gelbgrüne Färbung ein sehr empfindliches Reagens auf Pyocyanase. Bei Zusatz von Säure zu der mit Kalilauge versetzten Pyocyanase tritt Entfärbung ein. Nach Zusatz von reichlich Alkohol zur Pyocyanase bilden sich Coagula, die sich in Wasserstoffsuperoxyd unter Entwicklung von O wieder lösen, was der filtrierte Alkoholauszug nicht tut.

Meine Untersuchungen bezogen sich einmal auf die Feststellung der Wirkungen der Pyocyanase in vivo und in vitro, insbesondere aber auf die Eigenschaften des Pyocyanase-Immunserums.

Zu den Tierversuchen benutzte ich ausschließlich weiße Mäuse. In jeder Versuchsserie war eine Maus, der keine Injektion gemacht wurde, die also als Kontrolle diente. Die Impfungen waren ausschließlich subkutane; sie dienten lediglich zur Feststellung, ob und in welchen Dosen die Pyocyanase für diese Tiere giftig wirkt. Die mir übersandte Pyocyanase erwies sich bei der mikroskopischen und kulturellen Untersuchung absolut steril. Das Ergebnis der Tierversuche dürfte auch für klinische Zwecke nicht ganz wertlos sein.

1) Siehe Zeitschr. für Hyg. u. Infekt. Bd. XXXI und Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXVII. 1900. (Die Herstellungsart ist in Heims Lehrbuch der Bakteriologie, Stuttgart 1906, beschrieben. Dasselbst, sowie in Escherichs Arbeit „Ueber die Verwendung der Pyocyanase bei der Behandlung der epidemischen Säuglingsgrippe und der Meningitis cerebrospinalis“ (Wiener klin. Wochenschr. 1906. No. 25), ist auch die gesamte Literatur über Pyocyanase zusammengestellt.

Maus No.	Injiziert		Erfolg
	am	Pyocyanase ccm	
1	31. Mai	0,01	ohne
2	31. "	0,04	† 2. Juni
3	31. "	0,05	ohne
4	6. Juni	0,1	ohne
5	6. "	0,3	† 6. Juni
6	6. "	0,5	† 7. Juni
7	2. Juli	1,0	† 2. Juli
8	2. "	1,0	† 2. "
9	2. "	1,0	† 2. "
10	6. Sept.	0,1	ohne
11	6. "	0,3	† 9. Sept.
12	6. "	0,4	† 7. "
13	6. "	0,5	ohne
14	6. "	1,0	† 7. Sept.

(Den Mäusen 10—14 wurde besonders sorgfältig dialysierte Pyocyanase injiziert.)

Aus dieser kleinen Tabelle läßt sich ersehen, daß die Toleranz der Mäuse eine sehr variierende und individuelle ist. Jedenfalls aber wirkt die Pyocyanase, in der Menge von 1,0 ccm subkutan injiziert, bei weißen Mäusen innerhalb 24 Stunden tödlich. Mit diesem Faktor habe ich auch im Folgenden operiert.

Das zur Serumproduktion dienende, 1250 g schwere Kaninchen zeigte sich gegen die subkutanen Injektionen von Pyocyanase sehr tolerant, während doch sonst Kaninchen gegen die Injektionen von Kulturen des *Bacillus pyocyaneus* sehr wenig widerstandsfähig sind. Das Kaninchen erhielt innerhalb 9 Wochen 6 ccm Pyocyanase. Während dieser Zeit war das Verhalten dieses Tieres, auch direkt nach der Injektion, unverändert normal. Es wurde am 9. Sept. 1907 zwecks Blutentnahme getötet. Das Serum wurde zunächst — natürlich an weißen Mäusen — auf Antitoxine untersucht.

Maus No.	Injiziert			Erfolg
	am	Serum ccm	Pyocyanase ccm	
1	14. Sept.	0,1	1,0	† 14. Sept.
2	14. "	0,3	1,0	ohne
3	14. "	0,5	1,0	"
4	14. "	1,0	1,0	"
5	18. "	0,5	1,0	† 20. Sept.
6	18. "	0,5	1,0	ohne
7	18. "	1,0	1,0	"
8	18. "	1,0	1,0	"

Die Mäuse 2—4 waren zwar etwa 24 Stunden post injectionem sehr apathisch, erholten sich dann aber wieder schnell. Bei den Mäusen 1—4 geschah die Injektion des Serums zugleich mit der der Pyocyanase, während bei den Mäusen 5—8 zuerst das Serum und erst nach 24 Stunden die Pyocyanase eingespritzt wurde, die Serumeinspritzung also eine präventive war. Ein antitoxischer Effekt des Serums ist zweifellos vorhanden; er ist am stärksten bei der simultanen Injektion, weniger stark bei der präventiven.

Die Prüfung des Serums auf Präzipitine geschah in folgender

Weise: Zu je 5,0 ccm einer 2-proz. Lösung von Pyocyanase (in 0,85-proz. steriler Kochsalzlösung) wurde hinzugefügt:

- 1) 0,1 ccm Serum;
- 2) 0,4 " "
- 3) 0,7 " "
- 4) 1,0 " "

Als Kontrollproben dienten:

5,0 ccm 2-proz. Lösung von Pyocyanase (in 0,85-proz. steriler Kochsalzlösung) und 1,0 ccm Serum, beide ohne Zusatz. Nach 6-stündigem Aufenthalt der Proben im Brutschrank (bei 37°) war in 3 und 4 ein sehr geringer brauner Niederschlag, aber keine Trübung, vorhanden. Dieser Niederschlag aber war zum Unterschied von den sonstigen Präzipitaten nicht flockig, sondern sehr feinkörnig. Die sämtlichen anderen Proben, insbesondere die Kontrollen, waren klar und ohne Bodensatz. Gleichwohl konnte ich die Resultate in 3 und 4 mit Rücksicht auf die eigentümliche Beschaffenheit des Niederschlages nicht als positiv ansehen. Ich nahm deshalb nochmals eine Nachprüfung vor in der Weise, daß ich eine Mischung von gleichen Teilen Serum und Kochsalzlösung mehrere Tage absetzen ließ und dann zu 1,0 ccm dieser Mischung 1,0 ccm Pyocyanase und 1,0 ccm NaCl-Lösung hinzufügte (letztere behufs besserer Durchsichtigkeit). Nachdem diese Probe 24 Stunden lang im Brutschrank (bei 37°) gestanden hatte, war der Niederschlag wiederum so feinkörnig und so minimal, daß ich ihn nicht als echtes Präzipitat ansprechen konnte. Es geht daraus hervor, daß die Pyocyanase frei von Eiweißkörpern ist, ein für ihre Haltbarkeit sowie für ihre therapeutische Verwendung nicht unwichtiges Moment!

Die Gelatine verflüssigende und Eiweiß peptonisierende Wirkung der Pyocyanase ist schon von Emmerich erwähnt. Wie verhält sich hierzu das Immunserum?

In gleich große Reagenzgläschen mit gerade erstarrter Gelatine wurde nachdem deren oberes Niveau markiert war, eingefüllt:

- 1) 1,0 ccm Pyocyanase + 1,0 ccm Serum;
- 2) 1,0 " " + 1,0 " NaCl-Lösung;
- 3) 1,0 " " allein
- 4) 1,0 " Serum allein.

Natürlich kamen diese Gläschen nicht in den Brutschrank, sondern blieben bei Zimmertemperatur (16°) stehen. Nach 4 Tagen war die Verflüssigungszone in Probe 1 0,2 ccm, in Probe 2 und 3 1,0 ccm hoch; Probe 4 war unverändert. Eine Verlangsamung der Gelatineverflüssigung seitens des Immunserums war also vorhanden; sie beruht, wie die Probe 2 zeigt, nicht auf einer relativen Verdünnung der Pyocyanase, sondern muß als eine chemische Wirkung angesehen werden. Diese Wirkung hielt übrigens nur 8 Tage an; nach dieser Zeit ging die Verflüssigung der Gelatine in Probe 1 genau so schnell vor sich, wie in Probe 2 und 3. Daraus folgt, daß zur Neutralisation der Antifermente durch die Pyocyanase 8 Tage erforderlich waren, und daß dann noch immer ein ziemlicher Ueberschuß von freien Fermenten in der Mischung vorhanden war.

Für die hämolytischen Versuche wurde eine möglichst konzentrierte Aufschwemmung gewaschener Kaninchen- oder Taubenerythrocyten in 0,85-proz. Kochsalzlösung benutzt. Jedes Gläschen enthielt je 0,1 ccm dieser Emulsion; hierzu wurde hinzugefügt:

- | | | | |
|----|---------------------|---|----------------------|
| 1) | 0,1 ccm Pyocyanase | + | 0,4 ccm NaCl-Lösung; |
| 2) | 0,2 " " | + | 0,3 " " |
| 3) | 0,3 " " | + | 0,2 " " |
| 4) | 0,4 " " | + | 0,1 " " |

Zur Kontrolle dienten:

- | | | |
|---|---|----------------------|
| 0,1 ccm Erythrocyten-Emulsion | + | 0,5 ccm Pyocyanase; |
| 0,1 " NaCl-Lösung | + | 0,4 ccm Pyocyanase; |
| 0,5 " Pyocyanase; | | |
| 0,1 " Erythrocyten-Emulsion | + | 0,4 ccm NaCl-Lösung. |

Nach 18-stündigem Verweilen der Proben im Brutschrank (bei 37 °) waren die Proben 1 und 2 sowie die Kontrollproben unverändert, die Proben 3 und 4 zeigten dagegen entsprechend der zugesetzten Menge Pyocyanase stärkere Hämolyse. Ob es sich jedoch um echte Hämolsine handelt, ist fraglich. Denn dann hätte die Auflösung der Erythrocyten doch wohl schneller von statten gehen müssen. Gegen die Annahme, daß ein hoher Salzgehalt der Pyocyanase die Hämolyse verursacht habe, spricht der Umstand, daß diese auch bei Verwendung der besonders sorgfältig dialysierten Pyocyanase eintrat. Jedenfalls muß, wenn die Pyocyanase echte Hämolsine enthält, das homologe Immunsrum Anti-hämolsin enthalten. Diese Frage sollte durch die folgenden Versuche, die in derselben Weise wie vorhin ausgeführt wurden, entschieden werden:

Zu je 0,1 ccm Erythrocyten-Emulsion wurden hinzugefügt:

- | | | | |
|----|---------------------|---|---------------------|
| 1) | 0,4 ccm Pyocyanase | + | 0,1 ccm Serum; |
| 2) | 0,4 " " | + | 0,3 " " |
| 3) | 0,4 " " | + | 0,5 " " |
| 4) | 0,4 " " | + | 1,0 " " |

Kontrollproben:

- | | | |
|-------------------------------|---|---------------------|
| 0,1 ccm Erythrocyten-Emulsion | + | 0,4 ccm Pyocyanase; |
| 0,5 ccm Serum. | | |

Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank war in allen Proben keine Hämolyse festzustellen. Nur in Probe 5 waren die Blutkörperchen völlig gelöst. Ist somit bewiesen, daß das Serum antihämolytisch wirkt, so spricht doch der folgende Kontrollversuch gegen die Annahme von echten Antihämolsinen:

0,1 ccm Erythrocyten-Emulsion + 0,4 ccm Pyocyanase + 0,4 ccm NaCl.

Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank war hier keine Hämolyse eingetreten.

Zu den Verdauungsversuchen nahm ich ein seröses Exsudat (Hydrocele) und geronnenes Hühnereiweiß. Die Hydrocelenflüssigkeit gab, gekocht und filtriert, nur eine sehr schwache Biuretreaktion; die mit 0,85-proz. NaCl-Lösung verdünnte Pyocyanase gab, gekocht und filtriert, keine Biuretreaktion. Es wurden nun die folgenden Proben angesetzt:

- | | | | |
|----|-------------------------------|---|---------------------|
| 1) | 1,0 ccm Hydrocelenflüssigkeit | + | 0,1 ccm Pyocyanase; |
| 2) | 1,0 " " | + | 0,2 " " |
| 3) | 1,0 " " | + | 0,3 " " |
| 4) | 1,0 " " | + | 0,4 " " |

Kontrollproben:

- | | |
|-------------------------------|------------------------|
| 1,0 ccm Hydrocelenflüssigkeit | ohne Zusatz; |
| 0,5 " Pyocyanase | + 0,5 ccm NaCl-Lösung. |

Nach mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank gaben die Proben 1—4, in denen übrigens ein geringer feinkörniger brauner Bodensatz, ähnlich dem bei den Präzipitierungsversuchen beobachteten, vorhanden war, beim

Kochen eine Fällung, ein Beweis, daß noch unverändertes Eiweiß in ihnen vorhanden war; das Filtrat lieferte sehr deutliche Biuretreaktion und zwar um so stärker, je größer der Zusatz von Pyocyanase gewesen war. Das aus Hydrocelenflüssigkeit allein bestehende Kontrollpräparat dagegen blieb beim Kochen unverändert (es gab nach Zusatz von Kalilauge einen Niederschlag, der sich beim Kochen mit Salzsäure wieder löste); das Filtrat gab prachtvoll Biuretreaktion. Offenbar handelte es sich hier um eine Antipeptonisierung, während in den Proben 1—4 die Pyocyanase eine peptonisierende Wirkung entfaltet haben muß. Durch Kochen zur Gerinnung gebrachtes und gewaschenes Hydroceleneiweiß war nach Zusatz von Pyocyanase und mehrtägigem Aufenthalt im Brutschrank zum Teil aufgelöst; nach dem Kochen und Filtrieren trat Biuretreaktion auf. Die Versuche mit geronnenem Hühnereiweiß wurden folgendermaßen gemacht:

- | | | | | | |
|----|---------|-------------|---|---------|-------------|
| 1) | 2,0 ccm | NaCl-Lösung | + | 1,0 ccm | Pyocyanase; |
| 2) | 2,5 | " | + | 0,5 | " " |
| 3) | 2,6 | " | + | 0,4 | " " |
| 4) | 2,7 | " | + | 0,3 | " " |
| 5) | 2,8 | " | + | 0,2 | " " |
| 6) | 2,9 | " | + | 0,1 | " " |

Zu allen Proben wurde die gleiche Menge Hühnereiweiß zugesetzt. Nach 3-tägigem Stehen im Brutschrank gaben nur die Proben 2 und 5 nach Kochen und Filtration schwache Biuretreaktion, und zwar 5 stärker als 2.

Die entsprechenden Versuche mit Pyocyanase und dem homologen Immunserum gaben bei Verwendung von geronnenem Hühnereiweiß keine Biuretreaktion. Jedoch möchte ich hierauf kein besonderes Gewicht legen, da ja auch die Verdauungsversuche mit Pyocyanase ohne Zusatz von Serum keine deutlichen Resultate gaben, und überhaupt die braune Farbe der Pyocyanase bei der Ausführung der Biuretreaktion außerordentlich störend ist.

Von den verschiedenen Wirkungen des Pyocyanase-Immunserums ist also die antitoxische die am meisten ausgeprägte. Sie wird zur Bemessung der Wertigkeit eines Pyocyanase-Immunserums wohl am ehesten in Frage kommen müssen. Es darf wohl angenommen werden, daß das Toxin, welches der Pyocyanase ihre Wirkung verleiht, dasselbe ist, wie das in den Bouillonkulturen des *Bacillus pyocyaneus* beobachtete.

Da die bisherigen Arbeiten über Pyocyanase-Immunserum sich fast ausschließlich mit den bakteriziden Eigenschaften desselben beschäftigen, so habe ich es nicht für überflüssig gehalten, hier auch dessen andere Wirkungen zu demonstrieren. Mir selbst aber sollten die oben erwähnten Versuche den Schlüssel geben für einige Rätsel, die sich mir bei der klinischen Verwendung der Pyocyanase aufdrängten, und über die ich demnächst an anderer Stelle zu berichten hoffe.

Nachdruck verboten.

Ueber die Infektion begünstigende, aggressinartige Wirkung der Filtrate junger Bouillonkulturen.

[Aus dem hygienischen Institut der Universität Straßburg.]

Von Prof. Dr. E. Levy und Frau Dr. Granström-Woskoboïnikow.

Kurze Zeit nach der Aufstellung der Aggressinlehre durch O. Bail konnte der Eine von uns (E. Levy) zusammen mit W. Fornet den Nachweis erbringen, daß die frischen Filtrate von 24- bis 48-stündigen Typhus- und Paratyphusbouillonkulturen aggressive Eigenschaften besitzen¹⁾. Sie machen, ohne selbst toxisch zu wirken, untertödliche Dosen von Typhus- und Paratyphusbacillen zu tödlichen, sie hemmen die Phagocytose.

Es war nun von Wichtigkeit zu untersuchen, ob auch noch andere Bakterien, die keine Toxine in der früheren, alten Auffassung erzeugten, solche, die Infektion begünstigende, aggressinartig wirkende lösliche Stoffwechselprodukte ausscheiden. Wir unterzogen uns dieser Aufgabe für *B. pyocyaneus* und *B. proteus*. Es kamen stets 24-stündige Bouillonkulturen zur Anwendung; von sämtlichen Filtraten wurden zur Prüfung auf Sterilität mit je 0,1 ccm Agar- und Gelatineplatten angefertigt.

A. *Pyocyaneus*.

$\frac{1}{4}$ ccm 24-stündiger Bouillonkultur tötet bei intraperitonealer Infektion stets Meerschweinchen von 300–450 g innerhalb 24 Stunden. Wir hatten für unseren Stamm in dieser Menge die sichere minimale letale Dosis vor uns. Die Filtrate waren selbst in Quantitäten von 10 ccm intraperitoneal injiziert für Meerschweinchen unschädlich. 20 ccm töteten bei intravenöser Einverleibung Kaninchen. In Darm und Nieren waren Hämorrhagien zu konstatieren. 5 ccm frisches *Pyocyaneus*-Filtrat plus $\frac{1}{20}$ ccm Kultur töteten uns zahlreiche Meerschweinchen, die bis 550 g schwer waren. Nur eine einzige Ausnahme hatten wir zu verzeichnen bei einem Tier von 605 g Gewicht. Es fand sich stets eitrige Peritonitis; aus dem Exsudat und aus dem Herzblut ließ sich *Pyocyaneus* züchten. 5 ccm physiologische Kochsalzlösung oder 5 ccm Bouillon plus $\frac{1}{20}$ Kultur brachten Meerschweinchen niemals zu Fall, nicht einmal Tierchen von nur 180 g Gewicht.

Wir wandten uns nunmehr der Frage zu, ob die aggressinartige Wirkung der *Pyocyaneus*-Filtrate hitzebeständig ist oder nicht. Weder ein 15 Minuten langes Erhitzen auf 60° noch ein solches auf 100° war in der Lage, dieselbe aufzuheben. Allerdings traten die Resultate nicht mehr so regelmäßig ein wie bei Verwendung unbehandelter Filtrate. In einer Versuchsreihe mit Filtrat, das auf 60° erhitzt worden war, gingen uns z. B. von 4 Meerschweinchen 3 zu Grunde, in einer anderen bei 100° von 5 nur 3. Jedenfalls erleidet die aggressinartige Wirkung eine geringe Einbuße.

Levy, E., u. Fornet, W., Ueber Filtrataggressine. (Deutsche med. Wochenschrift. 1906. No. 26.)

B. Proteus.

Auch beim *Proteus* konnten wir die infektionsbegünstigende Wirksamkeit der bakterienfreien Filtrate bestätigen. Der verwandte *Proteus*-Stamm war von uns frisch gezüchtet worden. Seine Bouillonkulturfiltrate erwiesen sich anfangs als ziemlich toxisch; 4 ccm töteten bei intraperitonealer Injektion Meerschweinchen. Aber bereits nach 10 Tagen künstlicher Züchtung war diese Giftigkeit so weit zurückgegangen, daß die Tierchen jetzt anstandslos diese Menge ertrugen. Nichtsdestoweniger haben wir bei unseren Aggressinversuchen nur 2 ccm Filtrat gebraucht. Die sicher tödliche minimale Dose der gewachsenen 24-stündigen Bouillonkultur betrug $\frac{1}{2}$ ccm. 2 ccm Filtrat plus $\frac{1}{10}$ ccm Kultur töteten unsere Meerschweinchen, während die Kontrollen stets am Leben blieben.

C. Spezifizität.

Pyocyaneus-Filtrate machen untötliche Dosen von *Proteus* zu tödlichen und umgekehrt besitzen *Proteus*-Filtrate dieselbe Eigenschaft für den *Bacillus pyocyaneus*. 4 ccm *Pyocyaneus*-Filtrat plus $\frac{1}{10}$ ccm *Proteus* brachten bei intraperitonealer Einverleibung die Meerschweinchen zu Fall und ebenso 1,5 ccm *Proteus*-Filtrat plus $\frac{1}{20}$ ccm *Pyocyaneus*-Bouillonkultur.

Eine negative Chemotaxis kommt nicht zu stande. Unsere Präparate, die nach 3 und $3\frac{1}{2}$ Stunden mit dem Bauchhöhlenexsudat angefertigt waren, sprechen entschieden dafür, daß eine Vermehrung der Bacillen durch die Filtratwirkung begünstigt und daß die Phagocytose gehemmt wurde.

Es war uns also geglückt, auch bei *Pyocyaneus* und *Proteus* lösliche Stoffwechselprodukte, die infektionsbegünstigend wirken, nachzuweisen. Dieselben werden durch Erhitzen auf 60 und 100° etwas abgeschwächt, aber nicht inaktiviert. Sie sind in ihrer Tätigkeit nicht streng spezifisch begrenzt. Die verwandten Filtrate waren nicht ungiftig, sie töteten in größeren Dosen Tiere, das *Pyocyaneus*-Filtrat Kaninchen, das *Proteus*-Filtrat Meerschweinchen.

Schlußbetrachtungen.

Von E. Levy.

Hier muß zunächst betont werden, daß Arloing¹⁾ und Bouchard²⁾, gestützt auf ihre und ihrer Schüler Untersuchungen, von

1) Arloing sprach 1888 die Hypothese aus, daß lösliche Stoffwechselprodukte der Tuberkelbacillen deren Ansiedelung begünstigten. (Die experimentelle Begründung erfolgte durch seinen Schüler Courmont.) Literatur siehe bei Courmont in seiner Thèse: *Etude sur les substances solubles prédisposant à l'action pathogène de leurs microbes producteurs*. Lyon, juillet 1891, und *Revue de médecine*, XI. 1891.

2) Bouchard, *Théorie de l'infection* oder wie der spätere Titel lautete: *Essai d'une théorie de l'infection*. (Communication au X. Congrès international de médecine. Berlin 1890.) *Actions des produits sécrétés par les microbes pathogènes*. (Hommage à la faculté de médecine à l'occasion du sixième centenaire de l'université de Montpellier. 1890, und *Revue de médecine*. 1890.) — Roger, *Société de biologie* 27 juillet 1889. — Charrin et Gley, *Archives de physiologie*, oct. 1890 et janvier 1891. — Roger, *Société de biologie*, 4 juillet 1891.

1888 ab energisch die Ansicht vertraten, daß die löslichen Stoffwechselprodukte von Bakterien, welche eine Immunität zu erzeugen in der Lage waren, die Krankheit rascher, gefährlicher verlaufen ließen, wenn sie im Augenblick der Infektion miteingeführt wurden, daß sie untertödliche Dosen zu tödlichen machten, daß sie die Immunität, die natürliche sowohl wie die erworbene, überwand. Bouchard und seine Schüler wiesen bakterielle Stoffwechselprodukte nach, die sich der Diapedese und dem Phagocytismus widersetzen. Durch solche Stoffwechselprodukte wird das vasodilatatorische Zentrum gelähmt (Charrin und Gley für *Pyocyaneus*), durch andere kommt es vielleicht zur direkten Lähmung der Leukocyten. Diese Sekrete machen die Gefahr von gewissen Mikroben aus, mehr noch als die fiebererzeugenden und giftigen Stoffwechselprodukte.

Eine weitere Stütze für die Annahme von löslichen, aggressinartig wirkenden bakteriellen Stoffwechselprodukten kann man auch in den Serumbefunden erblicken, die E. Levy in Gemeinschaft mit L. Beckmann bei tödlich infizierten Schweinepestkaninchen erhob¹⁾. Die Injektion von großen Mengen von solchem Infektionsserum, das keimfrei gewonnen wurde, hatte keinerlei Giftwirkung im Gefolge. Sie zeitigte jedoch trotzdem eine Immunität gegen sonst tödliche Mengen von Schweinepestbacillen. Der Zustand des Geschütztseins stellte sich erst nach dem 5. Tage, in unseren Versuchen am 11. Tage ein.

Ob man es in den Filtraten von *Pyocyaneus*, *Proteus*, Typhus und Paratyphus mit Stoffwechselprodukten nach Art der Toxine oder Endotoxine zu tun hat, darüber läßt sich, das sagte ich bereits in der ersten Mitteilung mit Fornet, streiten, wenschon eigentlich die Verwendung von 24-stündigen Bouillonkulturen viel eher zu Gunsten von Toxinen sprechen. Es ist aber dies nur ein Streit um Worte, da man an dem prinzipiellen Unterschied, der früher zwischen Toxinen (Exotoxinen) und Endotoxinen aufgestellt wurde, nicht mehr gut festhalten kann. Man wird immer mehr zu der Annahme gedrängt, daß auch die sogenannten Leibergifte unter gewissen Umständen leicht in die Umgebung, als Toxine gewissermaßen, übergehen können. In dieser Ansicht wird man um so mehr gestärkt, als es Besredka²⁾ gelungen ist, auch gegen die Endotoxine Antitoxine darzustellen. Es ist ja auch bei vielen sogenannten Endotoxinbildnern geglückt, lösliche Toxine nachzuweisen, z. B. bei Dysenterie [Rosenthal, Todd, Kraus und Doerr³⁾], bei Typhus [Chantemesse⁴⁾, Kraus und R. v. Stenitzer⁵⁾, H. Aronson⁶⁾, Fritz Meyer und P. Bergell⁷⁾]. Besonders eignet sich die für die Darstellung des Diphtherietoxins so vorzügliche Methode von

1) Levy, E. und Beckmann, L. Sind im Blutserum von mit Schweinepest- und Milzbrandbacillen tödlich infizierten Kaninchen wirksame oder giftige Stoffwechselprodukte nachweisbar? (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII.)

2) Besredka, Etudes sur le bacille typhique et le bacille de la peste. (Annales de l'Institut Pasteur. T. XIX. 1905.)

3) Literatur siehe bei Doerr, Das Dysenterietoxin. Jena 1907.

4) Chantemesse, Toxine typhoïde soluble et sérum antitoxique de la fièvre typhoïde. (Progrès médical. 1898; siehe auch Verhandlungen des 9. internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie. 1898.)

5) Kraus R. und v. Stenitzer, R., Ueber Toxine des Typhusbacillus. (Wiener klin. Wochenschr. 1907. No. 12.)

6) Aronson, Hans, Untersuchungen über Typhus und Typhusserum. (Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 18.)

7) Meyer, Fritz und Bergell, Peter, Ueber Typhusimmunisierung. (Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 18.)

Aronson hierzu, die Mikroben in Bouillonoberflächenkulturen wachsen zu lassen.

Genau wie bei den Exsudataggressiven von Bail und wie bei den Bakterienextrakten von Wassermann und Citron muß auch bei unseren Filtraten die Frage erörtert werden: Darf man die ganze infektionsbegünstigende Wirkung nicht auf Gifte beziehen? Wie wir gesehen, sind die Filtrate wohl toxisch, nur muß man viel größere Dosen verwenden, um die Tiere zu töten, als um die infektionsbegünstigende Wirkung auszulösen. Jedenfalls ist der Einwand, den Doerr¹⁾ den Bailschen Aggressiven gegenüber erhoben hat, daß sie der Hauptsache nach infolge ihrer Giftigkeit, durch „eine additionelle Schädigung des Tierkörpers“ wirken, nicht ohne weiteres von der Hand zu weisen. Ob in den Filtraten das spezifische Toxin, welches dieselben bei geeigneten Züchtungsbedingungen wohl stets enthalten, die Widerstandskraft des Organismus in den kleineren Dosen herabsetzt und so die Aggressivwirkung hervorruft, oder ob eine besondere Komponente des Filtrates die aggressinartige Wirkung bedingt, diese Frage ist vorläufig nicht zu beantworten. Auf die Hitzebeständigkeit der Aggressinfiltrate hin eine besondere Aggressinkomponente aufzustellen, geht nicht an, da auch lösliche Bakteriengifte hitzebeständig sein können, z. B. das Typhusgift von Aronson.

Eine Stütze für die Anschauung, daß Toxin und Aggressin nicht identisch sind, kann man vielleicht darin finden, daß Aronson in seinem Typhusserum, das er durch Behandeln von Pferden und Ziegen mit Filtraten gewonnen hatte, eine antitoxische Kraft nur in geringem Maße nachzuweisen in der Lage war, während die Wirkung dieses Serums gegenüber dem Aggressin sich in außerordentlich deutlicher Weise zeigte. Bail²⁾, der sich besonders auf diesen wichtigen Befund von Aronson stützt, meint hierzu, daß wenn die Aggressivität nur eine Folge der Toxizität darstellen würde, ein solches Verhalten gar nicht zu erklären wäre. Aronson hat also unseren Befund der löslichen Filtrataggressine bei Typhus dahin erweitert, daß er gegen dieselben ein spezifisches Antiaggressinserum geschaffen hat. Die immunisatorische Behandlung mit Filtraten kann folglich unter Umständen folgende Gegenkörper zeitigen: Antitoxine (v. Behring und Kitasato), Agglutinine (E. Levy und Bruns), Präzipitine (Kraus), Antiaggressine (Aronson). Ob die Antiaggressine den Oponinen Wrights und den Bakteriotropinen von Neufeld und Rimpau gleichzusetzen sind, muß noch offen gelassen werden. Fällt aber die Antwort auf diese Frage bejahend aus, so würde hierdurch mit Leichtigkeit der Umstand erklärt werden, warum das bakteriotrope Serum auch erhitzte virulente Mikroorganismen phagocytiert macht. Haben wir doch gesehen, daß die Aggressine hitzebeständig sind.

Spiele die löslichen Aggressine bei natürlichen Infektionen, wo nur ganz wenig Bakterien sehr häufig im Spiele sind, von vornherein, gleich im Beginn der Infektion eine Rolle? Auch diese Frage läßt sich vorläufig nicht entscheiden. Sicherlich aber sind diese bakteriellen Stoffwechselprodukte in hohem Maße zu berücksichtigen in allen den

1) Doerr, Ueber das sogenannte Dysenterieaggressin. (Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 42.) Ueber die infektionsbegünstigende Wirkung steriler Exsudate. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. Heft 5 und 6.)

2) Bail, Fortschritte in der Erforschung der Bakterienaggressivität. (Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 24.)

Fällen, in denen die betreffenden Mikroorganismen auf unseren Nahrungsmitteln längere Zeit sich aufgehalten und sich vermehrt haben. Gelangen z. B. Typhusbacillen in Milch, so werden sie sich darin vermehren, die besprochenen löslichen Stoffwechselprodukte bilden, und wenn nunmehr solche Milch genossen wird, so begünstigen die mitaufgenommenen aggressinartigen Stoffe in hohem Grade die Infektion, und deswegen gerade ist diese Art der Infektion eine besonders gefährliche. Das gilt nicht allein für Typhus, sondern auch für andere Mikroorganismen, Paratyphusgruppe, *Proteus*-Gruppe u. s. w., auch für andere Nahrungsmittel als Milch, für Fleisch, sonstige aufbewahrte Speisen etc. Hierdurch erklärt sich zwanglos, warum solche Nahrungsmittelinfectionen mit gastro-intestinalem Charakter, verursacht durch *B. proteus*, oder *paratyphi*, oder *enteritidis*, häufig so rasch und foudroyant nach dem Genuß der kontaminierten Speise einsetzen. Es lägen also hier Fälle vor, in welchen die schädigenden löslichen Stoffwechselprodukte außerhalb eines lebenden Organismus gebildet werden. Sobald die infizierenden Mikroben im lebenden Organismus die Bedingungen erfüllt finden, die es ihnen ermöglichen, ihre Aggressine zu bilden, so wird ihre Vermehrung und weiter — denn dieses Moment allein genügt nicht — bei Schutzlosigkeit der Gewebe gegen die vermehrten Bakterien und ihre Stoffwechselprodukte ein Eindringen in das Innere und auch hier eine weitere Proliferation stattfinden. Was für Bedingungen hierzu erforderlich sind, in welchen Faktoren wir das Bestehen oder Fehlen des Gewebsschutzes gegen Bakterien und ihre Stoffwechselprodukte in allerletzter Linie zu suchen haben, ist größtenteils noch völlig unaufgeklärt. Wir kennen auch die Ursache noch nicht, warum bei einem Parasitenträger die sich vermehrenden Parasiten für den Trägerorganismus ganz ohne Schaden sind.

Da die Aggressine nicht spezifisch wirken, so ist es leicht erklärlich, warum bei einer bestehenden Infektion die Stoffwechselprodukte der primären Erreger den gewöhnlichen Entzündungs- und Eiterungserregern, die ja stets in den offenen Körperhöhlen sich aufhalten, die Wege gewissermaßen ebnen, sie infektionstüchtig machen. So entstehen wohl im Laufe zahlreicher Infektionskrankheiten die gefürchteten Sekundärinfektionen und zwar um so leichter, je schwerer der Organismus durch die primäre Erkrankung heimgesucht wird. Auch für die Mischinfektionen dürften die Aggressine von Belang sein.

Die ganze Auseinandersetzung über die Aggressine hat großen Nutzen gebracht. Wir wissen durch Wassermann und Citron, daß in den Bakterienleibern Aggressine aufzufinden sind, wir haben, wie wir gesehen, auch in den Filtraten ganz junger Kulturen Aggressine vor uns. Mit beiden läßt sich immunisieren, in beiden, in den Extrakten sowohl wie in den Filtraten, sind auch Gifte vorhanden, nach der alten Nomenklatur Endotoxine und Exotoxine. Man hat also die Mittel in der Hand, Sera zu gewinnen, die gleichzeitig antitoxisch, antiendotoxisch und antiaggressiv wirken, die also die Bakterien unter Umständen zweier ihrer Hauptwaffen berauben. Bail¹⁾ betont ja jetzt auch, daß bei seinen Halbparasiten, Typhus, Dysenterie, Aggressin und Toxin regelmäßig sich zusammen vorfinden, daß infolgedessen die Aggressinimmunität stets zu gleicher Zeit auch eine antitoxische sein müsse. Wir

1) Bail, Fortschritte in der Erforschung der Bakterienaggressivität. (Berliner klin. Wochenschr. 1907. No. 24.)

haben ferner zu berücksichtigen, daß Metschnikoff die Ansicht vertritt und vertreten läßt, daß seine Fixatoren, wenigstens zum Teil, mit den Opsoninen zu identifizieren seien. Letztere wirken schließlich doch antiaggressiv. Und so wären denn die Toxin-, Aggressin- und Phagocytentheorien im Einklang.

Nachdruck verboten.

Ueber aktive Immunisierung des Menschen gegen bacilläre Dysenterie.

[Mit Unterstützung der Gesellschaft zur Förderung deutscher Wissenschaft, Kunst und Literatur in Böhmen.]

Von Doz. Dr. **Franz Lucksch**, Prosektor, Czernowitz.

Eine seinerzeit in der hiesigen Irrenanstalt grassierende Dysenterie-epidemie, die ich an anderem Orte beschrieben habe, gab die Veranlassung, eine Schutzimpfung der in der Anstalt internierten Kranken zu versuchen, um auf diese Weise der Epidemie Herr zu werden, da trotz aller Vorsichtsmaßregeln immer wieder neue Erkrankungsfälle aufgetreten waren. Die in dieser Zeitschrift erschienene Arbeit von Lüdke hatte die Verwendbarkeit der Methode von Neisser u. Shiga und Löffler zur Immunisierung von kleineren Tieren gegen Dysenterie bestätigt, und ich wählte daher wegen der geringeren Umständlichkeit zur Herstellung meines Impfstoffes die Methode von Neisser und Shiga. Von dem Impfstoff entsprach 1 ccm 2 Oesen Kultur. Der auf diese Weise aus den Stämmen, die aus Krankenstühlen gezüchtet worden waren, und einem Original-Flexner-Stamm hergestellte Impfstoff wurde zunächst an Kaninchen auf seine Unschädlichkeit geprüft, und dann 2 Irren zu je 1 ccm am Vorderarm subkutan injiziert. Es trat keine Temperatursteigerung auf und am Orte der Injektion geringfügige Rötung und Schwellung. Da hiermit die Unschädlichkeit des Impfstoffes dargetan war, wurden nunmehr zunächst 110 Männer geimpft, und zwar mit je 1 ccm Impfstoff. 12 Männer wurden nach 8 Tagen mit der 2- resp. 3-fachen Dosis wiedergeimpft. Es traten bei Einzelnen Allgemeinerscheinungen in Form geringer Temperatursteigerungen auf (bis zu 38° C); die örtliche Reaktion bestand in geringer Rötung und Schwellung, die im Verlauf von 3—4 Tagen zurückgingen.

Es wurde nunmehr auch zu einer Impfung auf der Frauenabteilung geschritten und im ganzen noch 60 Personen geimpft; und zwar zunächst mit 2 ccm Impfstoff, 10 Personen wurden nach 10 Tagen mit der doppelten Menge des Impfstoffes revacciniert.

Zur Prüfung des Blutserums auf seine bakteriolytische Fähigkeit wurde 3 Personen Blut aus der gestauten Armvene entnommen. Diese Prüfung geschah stets im Pfeifferschen Versuch mit demselben Stamm, dessen Virulenz stets vorher geprüft wurde.

I. Versuch.

Kallista, 24. Dez. injiziert mit 1 ccm Impfstoff.

Meerschweinchen, 250 g, erhält 0,3 ccm Blutserum entnommen vor der Impfung

+ 1 Oese Flexner-Kultur. † nach 24 Stunden.

Blutentnahme am 8. Tage nach der Impfung.

Meerschweinchen, 250 g, erhält 0,1 ccm Serum + 1 Oese Flexner-Kultur.
 † innerhalb 24 Stunden. Meerschweinchen, 250 g, erhält 0,05 ccm Serum + 1 Oese
 Flexner-Kultur. † nach 24 Stunden.

II. Versuch.

Lauer.

1. Blutentnahme vor der Injektion:

Meerschweinchen, 230 g, erhält 0,3 ccm Serum + 1 Oese Flexner-Kultur.
 † nach 24 Stunden.

24. Dez. injiziert mit 2 ccm Impfstoff.

1. Jan. injiziert mit 4 ccm Impfstoff.

2. Blutentnahme 14. Jan.:

Meerschweinchen, 260 g, erhält 0,1 ccm Serum + 1 Oese Fl.-Kultur	} † nach 24 Stunden.
" 260 " " 0,05 " " + 1 " "	
" 260 " " 0,01 " " + 1 " "	

III. Versuch.

Vorel.

1. Blutentnahme vor der Impfung:

Meerschweinchen, 240 g erhält 0,3 ccm Serum + 1 Oese Flexner-Kultur. † nach
 24 Stunden.

24. Dez. injiziert mit 2 ccm Impfstoff.

1. Jan. injiziert mit 4 ccm Impfstoff.

2. Blutentnahme am 14. Jan.

Meerschweinchen, 260 g, erhält 0,1 ccm Serum + 1 Oese Fl.-Kultur	} † nach 24 Stunden.
" 260 " " 0,05 " " + 1 " "	
" 260 " " 0,01 " " + 1 " "	

Es war demnach weder bei dem Einfachgeimpften noch bei den
 Revaccinierten eine Steigerung der bakteriolytischen Fähigkeit des Blut-
 serums aufgetreten.

Was die praktischen Erfolge der Schutzimpfung anbelangt, war
 allerdings eine Zeitlang kein neuer Erkrankungsfall nach der Impfung
 aufgetreten, doch war dies wahrscheinlich darauf zurückzuführen ge-
 wesen, daß die Isolierung der Erkrankten zu dieser Zeit strenge durch-
 geführt worden war; als nämlich nach einiger Zeit die Rekonvaleszenten
 wieder auf ihre Abteilungen zurückgebracht worden waren, kamen neue
 Erkrankungsfälle zur Beobachtung. Es erkrankten:

Melneczuk, geimpft am 30. Dez.	am 3. Jan.	Tyron II, 2mal geimpft, am 31. Dez.	
Strepnik, nicht geimpft.	„ 18. Febr.	und 6. Jan.	am 14. März
Slawikorski, geimpft am 30. Dez.	„ 18. „	Rabinowitsch, 2mal geimpft, am 30. Dez.	
Slawnik, geimpft am 22. Dez.	„ 4. März	und 10. Jan.	„ 17. „
Chrabko, geimpft am 30. Dez.	„ 8. „	Zarudowski, nicht geimpft.	„ 13. „
Manz, geimpft am 30. Dez.	„ 13. „	Herazym, geimpft am 30. Dez.	„ 12. „
Tyron I, geimpft am 30. Dez.	„ 14. „	Hochstaedt, geimpft am 26. Febr.	„ 24. „
		Haber, geimpft am 26. Febr.	„ 24. „

Da mit der Methode von Neisser und Shiga eine Erhöhung des
 bakteriolytischen Titres des Blutserums der Geimpften bei Injektion der
 oben angegebenen Dosen nicht erreicht wurde, versuchte ich andere
 Methoden. Zunächst die Ausschüttelungsmethode von Brieger und
 Martin Mayer.

Die Kulturen wurden in der von diesen Autoren angegebenen Weise
 mit destilliertem Wasser (auf eine Agarstrichkultur je 5 ccm Wasser)
 durch 24 Stunden geschüttelt, durch Bakterienfilter filtriert, und das
 keimfreie Filtrat verimpft.

Daraus ergibt sich, daß es mit der Methode von Pfeiffer und Kolle möglich ist, gegen Flexner- resp. Y-Dysenteriebacillen erfolgreich Menschen zu immunisieren, resp. eine Erhöhung des bakteriziden Titres des Blutserums der Geimpften zu erzielen, eine Erhöhung, die größer ist als die, welche bei Rekonvaleszenten nach Flexner- oder Y-Dysenterie gefunden wird. (Siehe weiter unten.)

Während diese Untersuchungen mit den Flexner-Bacillen angestellt wurden, war auch der Versuch gemacht worden, einen Impfstoff herzustellen, der gegen beide Arten der bacillären Dysenterie schützen sollte, nämlich gegen den Kruse-Shiga und den Flexner-Bacillus.

Hierbei wurde ich in entgegenkommendster Weise von den Höchster Farbwerken vorm. Meister Lucius und Brüning unterstützt, welche den Impfstoff nach der Methode von Neisser und Shiga herstellten und mir übersandten.

1. Versuch an mir.

1. Blutentnahme am 29. Mai.

Agglutination für Bac. Kruse: 1:25 negativ.

" " Flexner: 1:25 negativ.

Bakterizidie Kruse:

Meersch., 230 g, erhält 0,1 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden

Bakterizidie Flexner:

Meersch., 230 g, erhält 0,1 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden.

29. Mai. Injektion von 1 ccm Impfstoff subkutan am Vorderarm.

Geringe Schwellung und Rötung der Impfstelle; Temperatur 37,1° C.

2. Juni, nach Genuß von Erdbeeren, die sonst anstandslos vertragen werden, Erythem des ganzen Körpers, das nach ca. 6 Stunden verschwindet.

5. Juni Blutentnahme.

Agglutination Kruse: 1:50 negativ.

" " Flexner: 1:50 "

Bakterizidie Kruse:

Meersch., 240 g, erhält 0,02 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden.

Bakterizidie Flexner:

Meersch., 200 g, erhält 0,02 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden.

5. Juni. Injektion von 2 ccm Impfstoff; wieder geringe Lokalreaktion, keine Temperatursteigerung.

12. Juni, nach Genuß von Erdbeeren tritt wieder ein Erythem des ganzen Körpers auf, zu dem sich auch eine Schwellung der Bronchialschleimhaut mit etwas Atembeschwerden gesellt.

13. Juni Blutentnahme.

Agglutination Kruse: 1:100 negativ.

" " Flexner: 1:100 "

Bakterizidie Kruse:

Meersch., 200 g, erhält 1 Oese Kultur.

" 190 " " 0,01 ccm Serum + 1 Oese Kultur. } † nach 24 Stunden.

Bakterizidie Flexner:

Meersch., 230 g, erhält 1 Oese Kultur.

" 240 " " 0,01 ccm Serum + 1 Oese Kultur. } † nach 24 Stunden.

2. Versuch.

Mag. Pharm. L. T.

23. Juni Blutentnahme.

Agglutination Kruse: 1:50 negativ.

" " Flexner: 1:50 "

Bakterizidie Kruse:

Meersch., 180 g, erhält 0,2 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden.

Bakterizidie Flexner:

Meersch., 200 g, erhält 0,2 ccm Serum + 1 Oese Kultur. † nach 24 Stunden.

23. Juni. Injektion von 2 ccm Impfstoff.

Etwas stärkere Infiltration, keine Temperatursteigerung.

1. Juli. Injektion von 6 ccm Impfstoff.

Starke Schmerzen, Temperatur 37,8° C.

11. Juli Blutentnahme.

Bakterizidie Kruse:

Meerschw.,	180 g,	erhält	1 Oese Kultur.			† nach 36 Stunden.
"	180 "	"	0,02 ccm Serum	+ 1 Oese Kultur.	†	" 24 "
"	190 "	"	0,01 " "	+ 1 " "	†	" 36 "

Bakterizidie Flexner:

Meerschw.,	220 g,	erhält	1 Oese Kultur.			† nach 24 Stunden.
"	220 "	"	0,02 ccm Serum	+ 1 Oese Kultur.	†	" 24 "
"	200 "	"	0,01 " "	+ 1 " "	†	" 36 "

Da auf diese Weise keine Erhöhung des bakteriolytischen Titres des Serums der Geimpften erreicht worden war, versuchte ich auch hier die Aufschüttelungsmethode.

Zu dem Impfstoff wurden nur Kruse-Bacillen verwendet und mit destilliertem Wasser durch 24 Stunden ausgeschüttelt. 1 ccm Impfstoff entsprach 2 Oesen Kultur. Der Impfstoff wurde zunächst an Tieren geprüft:

Meerschweinchen,	430 g,	erhält	2 ccm subkutan.	Lebt.
"	410 "	"	2 " intraperitoneal.	"
Kaninchen,	1520 "	"	2 " subkutan.	† nach 4 Tagen.

1. Versuch.

19. Juli. Herr J. C. erhält 1 ccm Impfstoff subkutan an der linken oberen Brusthälfte. 4 Tage nach der Injektion tritt starke Schwellung und Rötung der Injektionsstelle auf, die schmerzhaft ist und durch 10 Tage anhält.

2. Versuch an mir.

21. Juli Blutentnahme.

Agglutination: 1:25 negativ.

Bakterizidie: 0,5 ccm schützt vor der einfach tödlichen Dosis.

0,1 " schützt nicht mehr.

21. Juli. Injektion von 3 ccm Impfstoff. 4 Tage nach der Injektion tritt starke Rötung und Schwellung der Injektionsstelle auf, die mit starken Schmerzen verbunden ist. Temperatursteigerung bestand nicht, dagegen starke Abgeschlagenheit; das Infiltrat wird mit Umschlägen behandelt und geht langsam zurück.

4. Aug. Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meerschw.,	190 g,	erhält	1 Oese Kultur.	} † nach 24 Stunden.
"	190 "	"	0,01 ccm Serum + 1 Oese Kultur	

30. Aug. Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meerschw.,	320 g,	erhält	3 Oesen Kultur.			† nach 24 Stunden.
"	210 "	"	0,1 ccm Serum	+ 2 Oesen Kultur.	Lebt.	
"	230 "	"	0,05 " "	+ 2 " "	"	"
"	280 "	"	0,01 " "	+ 3 " "	"	"
"	200 "	"	0,005 " "	+ 1½ Oese	"	† nach 24 Stunden.

9. Okt. Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meerschw.,	240 g,	erhält	1 Oese Kultur.	} † nach 24 Stunden.
"	230 "	"	0,1 ccm Serum + 1 Oese Kultur.	
"	230 "	"	0,05 " " + 1 " "	

Es war zwar gelungen, mit einem Impfstoff, der durch Ausschütteln von Kruse-Bacillen erhalten worden war, eine Steigerung des bakteriolytischen Serumtitres der Geimpften zu erzielen, doch waren die bei der Impfung aufgetretenen Erscheinungen so unangenehmer Natur, daß eine aktive Immunisierung gegen Kruse-Bacillen auf diesem Wege nicht durchführbar erscheint.

Da sich die Kulturen, welche zur Herstellung des gegen beide Arten der bacillären Dysenterie gerichteten Impfstoffes verwendet worden waren, nicht sehr virulent erwiesen hatten, stellten mir die Höchster Farbwerke einen zweiten Impfstoff zur Verfügung, der aus den virulentesten Kruse-, Shiga- und Flexner-Bacillen nach der Methode

von Neisser und Shiga gewonnen worden war. 1 ccm Impfstoff entsprach 3 Normalösen.

Versuch.

B. W., Hausdiener.

19. April. Injektion von 2 ccm Impfstoff.

27. April. Injektion von 4 ccm Impfstoff.

Die Reaktion an der Impfstelle war eine stärkere Infiltration; keine Temperaturerhöhung.

7. Mai Blutentnahme.

Bakterizidie für Kruse:

Meersch., 200 g, erhält 1 Oese Kultur.

"	200	"	"	0,1	ccm Serum	+	1	Oese Kultur.	} † nach 24 Stunden.
"	200	"	"	0,05	"	+	1	"	
"	200	"	"	0,05	"	+	1	"	

Außerdem waren mit einem auf dieselbe Weise hergestellten Impfstoffe, den ich selbst aus dem virulentesten Kruse-Stamm meines Laboratoriums gewonnen hatte, 3 Personen und ich selbst injiziert worden, mit dem gleichen negativen Resultat bezüglich des bakteriolytischen Serumtitres der Geimpften. Bei diesem 3. Selbstversuch trat bei mir eine bedeutendere Infiltration an der Impfstelle auf als bei der 2. Versuchsperson, die dieselbe Dosis erhielt (2. Injektion 4 ccm). Die Injektion war an derselben Brustseite bei mir vorgenommen worden, an der 6 Monate zuvor die bedeutende Schwellung bestanden hatte; diese Erscheinung könnte auf eine Ueberempfindlichkeit des Gewebes der betreffenden Stelle bezogen werden.

Die Methode von Neisser und Shiga ergab demnach bei Anwendung der genannten kleinen Dosen auch bei 2maliger Impfung kein brauchbares Resultat bezüglich des bakteriolytischen Serumtitres der Geimpften, und größere Dosen anzuwenden scheint wegen der schon bei kleineren Mengen auftretenden lokalen Reaktion untunlich. Ich glaubte daher noch die Methode von Pfeiffer und Kolle für Krusebacillen versuchen zu müssen. Hierzu wurde der am wenigsten giftige Stamm ausersehen, der im Tierversuch noch immunisatorische Wirkung gezeigt hatte.

Der Impfstoff wurde von mir hergestellt und es entsprach 1 ccm desselben 2 Oesen Kultur.

Versuch 1.

26. Juni. Institutsdiener J. G. erhält 1 ccm Impfstoff injiziert; keine Temperatursteigerung, geringe Schmerzen, nach 8 Tagen taubeneigroßes, erhabenes Infiltrat, das fluktuiert, aber auf Alkoholumschläge wieder zurückgeht.

8. Juli Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meersch., 190 g, erhält 1 Oese Kultur.

"	180	"	"	0,1	ccm Serum	+	1	Oese Kultur.	} † nach 24 Stunden.
"	"	"	"	0,05	"	+	1	"	
"	"	"	"	0,05	"	+	1	"	

Versuch 2.

26. Juni. Dr. J. M. erhält 1 ccm Impfstoff injiziert. Verlauf wie bei der vorigen Versuchsperson.

8. Juli Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meersch., 200 g, erhält 1 Oese Kultur.

"	200	"	"	0,1	ccm Serum	+	1	Oese Kultur.	} † nach 24 Stunden.
"	200	"	"	0,05	"	+	1	"	
"	200	"	"	0,05	"	+	1	"	

Versuch 3.

22. Juni. Diener A. St. erhält $\frac{1}{2}$ ccm Impfstoff injiziert. Schmerzen an der Impfstelle, Kopfschmerzen, Krankheitsgefühl; innerhalb von 8 Tagen sind die Erscheinungen geschwunden.

4. Juli. Injektion von 1 ccm Impfstoff. Rötung und Schwellung der Injektionsstelle.

19. Juli vollständig genesen. Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meersch.,	200 g,	erhält 1 Oese Kultur.		† nach 24 Stunden.
"	200 "	" 0,1 ccm Serum + 1 Oese Kultur.	Lebt.	
"	200 "	" 0,05 " " + 1 " "	† nach 24 Stunden.	

Versuch 4.

25. Juni. Diener K. O. erhält 1 ccm Impfstoff. Keine Temperatursteigerung; taubeneigroßes fluktuierendes Infiltrat, das auf Alkoholumschläge zurückgeht.

8. Juli 2. Impfung mit 1 ccm Impfstoff; nach einigen Tagen tritt an der Impfstelle Rötung und Fluktuation auf.

18. Juli. Durchbruch von Eiter nach außen.

15. Aug. Geheilt.

Versuch 5.

26. Juni. Diener J. Cz. erhält 1 ccm Impfstoff; die Injektionsstelle zeigt nach 8 Tagen ein taubeneigroßes fluktuierendes, nicht schmerzhaftes Infiltrat, das spontan zurückgeht.

8. Juli. 2. Injektion von 1 ccm Impfstoff; es entwickelt sich eine an der Injektionsstelle ausgedehnte Infiltration und in der Mitte derselben Fluktuation.

18. Juli. Durchbruch des Eiters nach außen.

30. Juli. Fieber 39° C. Fortschreiten der Infiltration. Nach und nach geht das Infiltrat bei entsprechender Behandlung zurück.

4. Sept. Mit kleiner, granulierender Wunde entlassen.

25. Juli Blutentnahme.

Bakterizidie:

Meersch.,	200 g,	erhält 1 Oese Kultur		} † nach 24 Stunden.
"	200 "	" 0,1 ccm Serum + 1 Oese Kultur.		
"	"	" 0,05 " " + 1 " "		

Wie aus den vorausstehenden Versuchen hervorgeht, treten bei den Impfungen mit Kruse-Impfstoff nach Pfeifer und Kolle schwere Veränderungen an der Impfstelle auf, die die Anwendung dieser Methode verbieten, um so mehr, als auch der mit dieser Methode bei Revaccination erreichte Erfolg bezüglich der Erhöhung des bakteriolytischen Serumtitres der Geimpften gering oder gleich Null ist.

Da ich nach diesen letzten Mißerfolgen nicht mehr darauf rechnen kann, Versuchspersonen zu bekommen, sehe ich mich genötigt, meine Versuche zu veröffentlichen, trotzdem ich nur die Hälfte dessen erreicht, was ich mir als Ziel gesetzt.

Es war erwünscht zu untersuchen, ob und in welchem Maße durch Ueberstehen einer Dysenterieerkrankung Schutzkörper im Blute der betreffenden Rekonvaleszenten nachweisbar wären. Diese Untersuchungen waren deshalb von Interesse, weil man aus dem Vorhandensein von Bakterolysinen im Blute der Ruhrrekonvaleszenten sich einen Schluß auf die Dauer der durch Ueberstehen der Krankheit erworbenen Immunität, die ja allseitig als vorhanden angenommen wird, erlauben kann. Ferner aber war der dabei eventuell gefundene bakteriolytische Serumtitre deshalb von Interesse, weil er einen Maßstab dafür abgeben konnte, welche Höhe der durch die Schutzimpfung erreichte Titre haben müsse, um einen wirklichen Schutz vor Erkrankung zu garantieren. In der nachstehenden Tabelle (p. 367 u. 368) sind die Ergebnisse der diesbezüglichen Untersuchungen zusammengestellt.

Ein mit dem Serum von Fall 5 vorgenommener Pfeifferscher Versuch mit Flexner-Bacillen ergab, daß dem Serum von Krusedysenterierekonvaleszenten Flexner-Bacillen gegenüber keine bakteri-zide Eigenschaft zukommt.

Name	Stadium der Krankheit	Agglutination		Pfeifferscher Versuch			
		Kruse	Flexner				
mit Kruse-Bacillen							
1) N. Sahari	8 Tage gesund	1:50 +	1:50 —		Meerschw. 200 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 200 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 200 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur (krank) lebt
2) A. Dmetriuk	1 Monat krank (Rezidiv)	1:100 +	1:50 —	Meerschw. 210 g 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 200 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 200 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 210 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur lebt
3) Tverolachleb	4 Wochen gesund	1:100 +	1:50?		Meerschw. 220 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 220 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 220 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.
4) Michaliuk	2 Wochen gesund	1:100 +	1:50 +		Meerschw. 230 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 230 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 230 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.
5) Castellan	3 Wochen krank, gebessert	1:200 +	1:100 — 1:50(+)	Meerschw. 190 g 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 190 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 190 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 190 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.
6) Kulczak	4 Wochen gesund	1:50 +	1:50 —	Meerschw. 230 g 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 190 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 190 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 190 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur lebt
7) Hubka	6 Wochen gesund	1:50 —	1:50 —		Meerschw. 220 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 210 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 210 g 0,01 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.
mit Flexner-Bacillen							
8) Pithorny	14 Tage gesund	1:50 —	1:50 +		Meerschw. 190 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 190 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	
9) Reitmayer (Irrenanstalt)	6 Wochen krank, gebessert	1:50 —	1:50 +	Meerschw. 190 g 1 Oese Kultur † nach 12 Std.n.	Meerschw. 190 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 180 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur † nach 19 Std.n.	

Name	Stadium der Krankheit	Agglutination		Pfeifferscher Versuch		
		Kruse	Flexner	mit Flexner-Bacillen		
10) Moskal (Irrenanstalt)	3 Wochen krank, gebessert	1:50 —	1:100(+)	Meerschw. 190 g 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 190 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 200 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.
11) Prelepezan (Irrenanstalt)	2 Wochen krank	1:50 —	1:50 —	Meerschw. 250 g 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.	Meerschw. 250 g 0,1 Serum 1 Oese Kultur lebt	Meerschw. 250 g 0,05 Serum 1 Oese Kultur † nach 24 Std.n.

Die Untersuchung an Ruhrrekonvaleszenten ergab demnach, daß das Ueberstehen von Kruse-Dysenterie eine Steigerung des bakteriolytischen Serumtitres gegenüber den homologen Bacillen bis zu 0,01 hervorruft; diese Steigerung tritt am Ende der Krankheit auf, erreicht in der 4. Woche nach der Genesung ihren Höhepunkt und nimmt von da an wieder ab. Bei der Flexner-Dysenterie ist die Steigerung des bakteriziden Serumtitres eine geringe, sie erreicht höchstens 0,1 für die homologen Bacillen. Diese Befunde scheinen mir mit den schwereren klinischen Erscheinungen bei Kruse-Dysenterie und den leichteren bei Flexner-Infektion gut im Einklang zu stehen.

Es sei schließlich noch angeführt, daß keiner der Ruhrrekonvaleszenten, an denen die letztgenannten Untersuchungen ausgeführt wurden, mit Dysenterieheilserum behandelt worden war.

Ergebnisse¹⁾.

Der bakteriolytische Serumtitre der Ruhrrekonvaleszenten beträgt für die homologen Bacillen bei Kruse-Dysenterie bis zu 0,01, bei Flexner-resp. Y-Dysenterie 0,1. Diese Erhöhung des bakteriziden Titres hält bei Kruse-Dysenterie längere Zeit an; in der 4. Woche nach der Genesung ist der Titre am höchsten, um von da an wieder abzunehmen.

Es gelingt bei 2maliger Impfung mit dem nach der Methode von Pfeiffer und Kolle aus Flexner-Bacillen hergestellten Impfstoff eine Erhöhung des bakteriziden Titres der Geimpften zu erreichen, der den der Rekonvaleszenten übertrifft. Eine schädliche Nebenwirkung wurde dabei nicht beobachtet. Die anderen aktiven Immunisierungsmethoden hatten diesen Erfolg nicht aufzuweisen.

Eine Erhöhung des Serumtitres für Kruse-Bacillen konnte bei der aktiven Immunisierung nach der Methode von Neisser und Shiga nicht erreicht werden. Die anderen Methoden (Martin, Meyer und Brieger und Pfeiffer und Kolle) sind wegen der mit der Impfung verbundenen starken lokalen Reaktion für Kruse-Bacillen nicht anwendbar. Es wäre zu versuchen, ob eine aktive Immunisierung mittels der Bailschen Aggressine, die weniger giftig sind, möglich ist.

Czernowitz, im Oktober 1907.

1) Mitgeteilt am XIV. internationalen Kongreß für Hygiene und Demographie. Berlin 1907, Sektion V.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren).

Von Dipl.-Ing. Dr. **Adolf Reitz**, Stuttgart.

(Fortsetzung.)

Im ganzen wurden 150 g farbloses Diacetylfluorescein hergestellt. Zur Verseifung wurden folgende Versuche angestellt:

2 g KOH wurden in 10 g Alkohol absolut. gelöst. In die Lösung wurden 2 g Substanz eingetragen und das Ganze auf dem Wasserbad etwa eine Viertelstunde erhitzt. Zu der Masse wurden zwecks vollständiger Lösung noch 50–60 g Wasser gebracht. Sodann wurden zur Ausfällung des Fluoresceins verdünnte Essigsäure zugesetzt. Das Fluorescein fiel als harzige Masse aus, um bei weiterem Stehen allmählich kristallinisch zu werden. Das abgesaugte Produkt wurde mit 5 g Alkohol absol. auf dem Wasserbad erhitzt. Die Quantität des Alkohols mußte auf 50 g erhöht werden, da erst in dieser Menge Lösung des Fluoresceins eintrat (ein kleiner unlöslicher Rückstand blieb zurück). Der Alkohol wurde durch Abdestillieren um das 10-fache Volumen vermindert und die Kristallisation eingeleitet.

Das so erhaltene Produkt hinterließ auf dem Platinblech keinen Rückstand. Der Schmelzpunkt konnte wegen der Zersetzung des Körpers nicht bestimmt werden. Beim Versuch, eine weitere Reinigung durch Lösen in Eisessig auszuführen, erwies sich das Fluorescein als schwer löslich (Bernstein bezeichnet das Fluorescein als leicht löslich in Eisessig). Das durch längeres Kochen mit überschüssigem Eisessig gelöste Fluorescein konnte durch Zusatz von Wasser leicht wieder in harziger Form ausgefällt werden. Bei nochmaliger Lösung in verdünntem Eisessig ging es allmählich in die rote (?kristallinische) Form über.

Da diese Art der Verseifung zu umständlich war, um sie auf die ganze Menge des Diacetylfluoresceins anzuwenden, so wurden noch weitere Versuche angestellt:

50 g Diacetylfluorescein wurden mit 200 g Alkohol absol. und 20 Tropfen Salzsäure versetzt. Sodann wurden 2 g Natriumacetat zugesetzt. Das Ganze wurde auf dem Wasserbad gekocht, bis vollständige Lösung eingetreten war. Die auskristallisierte Masse wurde mit Wasser aufgeköcht, um das Natriumacetat zu entfernen.

Der einfachste Weg zur Verseifung des Diacetylfluoresceins und zur Gewinnung reinen Fluoresceins war folgender:

2 g Diacetylfluorescein wurden mit 20 g Alkohol absol. und 6 Tropfen konz. Salzsäure auf dem Wasserbad bis zur vollständigen Lösung behandelt, was etwa $\frac{3}{4}$ Stunden beanspruchte. In die Lösung wurden 150 g Wasser gebracht und das Ganze nochmals $\frac{3}{4}$ Stunden auf dem Wasserbad gelassen. Das Fluorescein schied sich allmählich in schönen dunkelroten Kristallen ab, die abgesaugt und mit Wasser zur Entfernung der Salzsäure gewaschen wurden.

Wurde die Lösung in Wasser gegossen, was bei einer 2. Probe getan wurde, so schied sich das Fluorescein in fein verteiltem gelben Zustand aus. Bei längerem Verweilen auf dem Wasserbad wurde das Fluorescein rot gefärbt. Die Färbung war jedoch eine hellere, als bei dem auf erstem Wege erhaltenen Produkt.

Die Analyse ergab folgendes Resultat:

	Gefunden	Berechnet
C	71.97 Proz.	72, 2 Proz.
H	3,94 „	3,62 „

Die Löslichkeitsverhältnisse waren folgende:

Wasser:	Mäßig löslich in Kälte
Chloroform:	Schwer löslich in Kälte
	Mäßig löslich in Wärme
Aceton:	Leicht löslich in Kälte
	Leicht löslich in Wärme
Benzol:	Schwer löslich in Kälte
	Mäßig löslich in Wärme
Eisessig:	Mäßig löslich in Kälte
	Leicht löslich in Wärme
Aether:	Schwer löslich in Kälte
	Mäßig löslich in Wärme
Alkohol:	Leicht löslich in Kälte und Wärme

Die Lösung in Alkohol und Aether ist gelbrot, alle anderen gelblich, teilweise mit starker Fluoreszenz gefärbt. Scheidet sich das Fluorescein aus den heißen konzentrierten Lösungen in Alkohol und Aceton aus, so sind die Kristallkörner dunkelrot gefärbt. Fällt man das Fluorescein aus alkalischer Lösung mittelst Säuren, so bildet es einen gelben Niederschlag, der beim Erwärmen und beim Trocknen gelbrot wird. Das Fluorescein ist nicht flüchtig. Beim Erhitzen bräunt es sich bei 290° und zersetzt sich bei weiterer Temperatursteigerung vollständig.

In Alkalien ist das Fluorescein leicht löslich. Sind die Alkalien konzentriert, so ist die Lösung dunkelrot ohne Fluoreszenz. Beim Verdünnen wird sie in durchfallendem Licht gelb und fluoresziert gelbgrün. Die Fluoreszenz verschwindet auf Zusatz der Säure. Alkoholisches Ammoniak fällt aus der ätherischen Lösung des Fluoresceins ein Ammoniumsalz in rotgelben Flocken, das jedoch sehr unbeständig ist.

Dieses nunmehr chemisch reine Fluorescein benutzte ich zu den bakteriologischen Versuchen.

Es wurden folgende Verdünnungen hergestellt: 1:100 (mit $\frac{1}{4}$ Norm.-Natronlauge), von dieser ausgehend durch Verdünnung mit sterilisiertem destilliertem Wasser 1:1000, 1:2000, 1:5000 1:10 000, 1:60 000, 1:100 000, 1:500 000, 1:1 000 000.

Als Nährböden benutzte ich Agar-Agar, Gelatine und Bouillon. Agar-Agar-Nährboden hatte ich auf folgende Weise hergestellt:

Von Sehnen, Knochen und Fett befreites Rindfleisch wurde in der Hackmaschine zerkleinert, 1 Pfund abgewogen, mit 1 l Wasser übergossen und bis zum anderen Tage stehen gelassen, abgepreßt mittelst einer Fleischpresse, filtriert durch ein Papierfilter, ergänzt auf ein Liter. Sodann wurden 15 g Stangenagar zugesetzt, der vorher in kleine Stückchen zerschnitten worden war. Nach einer Stunde wurde der Agar in den Autoklaven gebracht und verblieb dort bis zur Lösung (70 Min.). Sodann wurden 10 g Pepton sicc. Witte und 5 g Kochsalz zugesetzt. Die Neutralisation erfolgte mit Normalnatronlauge. Die Masse wurde 50 Min. in den Autoklaven eingesetzt, sodann filtriert. Das Filtrat wurde in sehr dünne sterilisierte Reagenzgläser eingefüllt. In jedes Reagenzglas wurden genau 5 ccm des Nährbodens gebracht.

Der Gelatinenährboden war auf folgende Weise hergestellt worden.

Zu 500 ccm Fleischwasser wurden 50 g Gelatinetafeln gegeben und im Wasserbad auf 55° erwärmt. Nach der Lösung wurden 5 g Pepton und 2,5 g Kochsalz zugesetzt und durch Erwärmen zur Lösung gebracht.

Der Nährboden wurde neutralisiert mit Normalnatronlauge. Nach dem Abkühlen auf 50° wurde das Weiße von einem Hühnerei zugegeben. Nach viertelstündigem Stehen im Dampftopf (vom Ausströmen des Dampfes an gerechnet) wurde im Heißwassertrichter filtriert und das Filtrat in Mengen von genau 5 ccm in sehr dünne sterilisierte Reagenzgläser gebracht.

Zur Herstellung von Nährbouillon wurde 1 l Fleischwasser erwärmt und mit 10 g Pepton sicc. Witte, 5 g Kochsalz versetzt. Nach der Lösung wurde mit Normalnatronlauge neutralisiert. Nach $\frac{3}{4}$ -stündigem Stehen im Dampftopf wurde durch ein angefeuchtetes doppeltes Faltenfilter filtriert. Von dem Filtrat wurden wiederum genau 5 ccm in sehr dünne sterilisierte Reagenzgläser gebracht.

Nach dem Füllen der Reagenzgläser wurden alle Gläser im Dampftopf sterilisiert.

Zu je 5 ccm der flüssig gemachten Nährböden wurden 1 ccm der Fluoresceinlösungen gebracht. Agar wurde schräg erstarren gelassen. Es wurden immer 3 Reagenzgläser mit einer und derselben Lösung behandelt.

A. Versuche mit *Bacterium typhi*.

Der hierzu verwendete Typhusstamm war aus dem Kot eines Typhuskranken gezüchtet worden. Es wurden zu den Versuchen stets frische 24 Stunden alte Typhuskulturen verwendet.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceins.

Konzentration	Makroskopischer Befund
1:100	Nährboden stark fluoreszierend Nicht sichtbares Wachstum
1:1000 (0,5 ccm)	Nährboden stark fluoreszierend Gutes typisches Wachstum
1:2000	Nährboden stark fluoreszierend Gutes Wachstum
1:5000	Nährboden stark fluoreszierend Gutes Wachstum
1:10 000	Nährboden stark fluoreszierend Sehr gutes Wachstum
1:60 000	Nährboden schwach fluoreszierend Sehr gutes Wachstum
1:100 000	Nährboden sehr schwach fluoreszierend Sehr gutes Wachstum
1:500 000	Fluoreszenz des Nährbodens kaum sichtbar Sehr gutes Wachstum
1:1 000 000	Fluoreszenz kaum sichtbar Sehr gutes Wachstum

Kontrolle:

Auf allen 3 ungefärbten Röhrchen sehr gutes Wachstum.

Das Wachstum war von Konzentration 1:1000 an typisch. Der Metallglanz der Kulturen trat deutlich hervor. Die Kulturen zeigten in der Konzentration 1:1000 schwach gelbliche Färbung, was von der Aufnahme des Fluoresceins herrührte.

Mit allen Kulturen wurden Agglutinationsprüfungen vorgenommen. Das zu diesem Zweck verwendete Typhusserum war auf folgende Weise hergestellt worden:

Drei 24 Stunden alte Agarkulturen wurden abgeschwemmt und im Wasserbad 1 Stunde lang auf 65° gehalten. Die Abschwemmung wurde einem Kaninchen subkutan injiziert. Nach 10 Tagen erfolgte die Blutentnahme. Das Blut verblieb 24 Stunden im Eisschrank. Hernach wurde das klare Serum in Kapillarröhrchen eingefüllt.

Die Fluoresceinkulturen von *Bact. typhi* wurden mit physiologischer Kochsalzlösung abgeschwemmt. Bis zur Konzentration 1:2000 fluoreszierten die Abschwemmungen schwach, bei den höheren Verdünnungen nicht mehr.

Die Serumverdünnung war bei den Versuchen 1:50.

Das Ergebnis der Agglutinationsprüfung war folgendes:

Konzentration	Mikroskopischer Befund
1:100	Sehr wenig Bakterien mit geringer Beweglichkeit Nach 25 Minuten beginnende Agglutination
1:1000	Sehr viele gut bewegliche Bakterien Nach 25 Minuten beginnende Agglutination
1:2000	Viele gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten beginnende Agglutination
1:5000	Zahlreiche gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination
1:10 000	Zahlreiche gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination
1:60 000	Zahlreiche gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination
1:100 000	Sehr viele gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination
1:500 000	Sehr viele gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination
1:1 000 000	Sehr viele gut sich bewegende Bakterien Nach 25 Minuten eingetretene vollständige Agglutination

Bei der Konzentration 1:1000 und 1:2000 war die vollständige Agglutination nach 35 Minuten eingetreten.

Bei den Kontrollpräparaten war die Agglutination in 25 Minuten vollständig eingetreten.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceinpräparates auf *Bact. typhi*.

Die Versuche wurden mit Agar-Agar-Nährboden, mit Gelatine und Nährbouillon ausgeführt.

1. Versuche mit Agar-Agar-Nährboden, der mit Fluorescein in verschiedenen Konzentrationen beschickt wurde.

Die Herstellung der Verdünnungen war dieselbe wie bei A a.

Die Ausführung der Versuche wurde in folgender Weise gehandhabt: Von der Typhuskultur, die auf Schrägagar 48 Stunden gezüchtet worden war, wurde ein Teil (gewöhnlich 3 Platinösen) in sterile Bouillon übertragen, die 12 Stunden in den Brutschrank gestellt wurde.

Nach dieser Zeit wurden von den mit Fluorescein beschickten Agar-röhrchen im Dunkeln Petri-Schalen gegossen. Zu jeder Verdünnung wurden 6 Platten benützt. Nach dem Starrwerden dieser Platten wurden die Platten mit der Typhuskultur aus Bouillon beschickt und zwar auf die Weise, daß ein Tropfen der Kultur an einen sterilisierten Drigalski-Spatel gebracht und damit die Platte in ihrer ganzen Fläche infiziert wurde.

3 Platten wurden in schwarzes Papier eingewickelt und unter denselben Bedingungen aufbewahrt wie die anderen 3 Platten, die dem diffusen Tageslicht ausgesetzt wurden. Die Exposition war verschieden lang.

Dauer der Exposition 24 Stunden		
Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Mäßiges „	Gutes „
1:2000	Gutes „	„ „

In allen anderen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied im Wachstum wahrnehmen.

Als Kontrollplatten dienten 3 Petri-Schalen, die, nichtgefärbt, auf dieselbe Weise wie oben mit Typhusbacillen beschickt worden waren.

Eine Hemmung des Wachstums nach 24-stündiger Exposition im diffusen Tageslicht ließ sich nicht wahrnehmen.

Dauer der Exposition 48 Stunden.		
Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Sehr geringes Wachstum	Gutes „
1:2000	Geringes Wachstum	„ „
1:5000	Gutes Wachstum	„ „
1:10 000	„ „	„ „

In den weiteren Verdünnungen ließ sich kein Unterschied in dem Wachstum konstatieren.

Als Kontrollplatten hatten 3 Platten gedient, die mit ungefärbtem Agarnährboden beschickt worden waren. Zur Infektion wurde derselbe Stamm wie oben benützt.

Das Wachstum war folgendes:

Dauer der Exposition 48 Stunden. Gutes Wachstum auf allen 6 Platten.

Es ließ sich demnach ein, wenn auch sehr geringer Unterschied unter den Platten konstatieren. Die Verdünnungen 1:1000, 1:2000, die dem Licht ausgesetzt worden waren, hatten in mäßigem Grad wachstumshemmend gewirkt. Jedoch war die photodynamische Wirkung sehr gering.

Eine Abtötung der Typhuskulturen konnte in diffusem Tageslicht, selbst bei 4—6-tägiger Exposition, nicht erzielt werden, während dies im Sonnenlicht bereits bei 15-stündiger Exposition bemerkt wurde. Ein Unterschied in den Abtötungszeiten der Fluoresceinnährböden und der nicht gefärbten Nährböden konnte nicht bemerkt werden. Die Wirkung des Sonnenlichts war in beiden Fällen gleich intensiv.

2. Versuche mit Gelatinenährböden, die mit Fluorescein in verschiedener Konzentration beschickt worden waren.

Die Ausführung der Versuche war dieselbe wie bei Agarnährboden. Die Galatine wurde ebenfalls in Petri-Schalen gegossen.

Die Fluoreszenz trat in den Gelatineröhrchen außerordentlich schön hervor.

Dauer der Exposition 24 Stunden.

(Eine Vorschaltung von Strahlenfiltern zur Ausschaltung von Wärmestrahlen war unnötig, da die Versuche nur in diffusem Tageslicht ausgeführt wurden.)

Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Mäßiges „	Mäßiges „
1:2000	„ „	Gutes „
1:5000	Gutes „	„ „

In allen anderen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied im Wachstum wahrnehmen.

Auf den Kontrollplatten, die auf dieselbe Weise wie oben mit Typhusbacillen beschickt worden waren, konnte keine Hemmung des Wachstums konstatiert werden.)

Auch auf Gelatine war also die photodynamische Wirkung des Fluoresceins trotz seiner ausgeprägten Fluoreszenz sehr gering.

3. Versuche mit Bouillonröhren, die mit Fluorescein in verschiedenen Konzentrationen beschickt worden waren.

Die Ausführung war in diesem Falle so, daß von dem Bouillonstamm in Bouillon, die in verschiedener Konzentration mit Fluorescein gefärbt worden war, 3 Oesen gebracht wurden.

Die Exposition erfolgte in den Röhrrchen, die sehr dünnwandig waren. Nach der Exposition wurden die Röhrrchen umgeschüttelt. 1 ccm der Bouillon wurde sodann auf Agarplatten gebracht, die in den Brutschrank gestellt wurden.

Das Resultat war folgendes:

Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Vereinzelte Kolonien	Zahlreiche Kolonien
1:2000	Wenige „	„ „
1:5000	Zahlreiche „	„ „

In den weiteren Platten konnte kein Unterschied bemerkt werden. Die Kontrollröhren, die ungefärbt mit Typhusbakterien infiziert worden waren, wurden in derselben Weise behandelt. Nach der Exposition (24 Stunden) war überall gutes Wachstum eingetreten.

Eine 48-stündige Exposition bewirkte keinen Unterschied in der Wachstumshemmung.

Um zu untersuchen, ob die von der fluoreszierenden Lösung ausgehenden Strahlen auf Typhusbacillen einen Einfluß ausüben, wurde eine stark fluoreszierende alkalische Lösung hergestellt. (Das von mir hergestellte chemisch reine Fluorescein zeigte die Fluoreszenz in viel höherem Grade als die käuflichen Präparate.) Die Lösung wurde in ein größeres Becherglas gebracht. In die Lösung wurde eine am oberen Ende zugeschmolzene Reagenzröhre gesetzt, die eine Agarkultur von *Bact. typhi* enthielt. Als Kontrolle diente ein Präparat, das, in schwarzes Papier gewickelt, neben dem Becherglas aufbewahrt wurde.

Die Lösung wurde diffusum Tageslicht ausgesetzt.

Eine Wachstumshemmung konnte selbst nach 6-tägiger Exposition nicht bemerkt werden. Der Versuch wurde 5mal wiederholt. Ein Unterschied unter diesen Resultaten ist nicht vorhanden.

Die Lösung wurde 6 Stunden dem Sonnenlicht ausgesetzt. Eine Wachstumshemmung trat nicht ein. Nach 15-stündiger Exposition im Sonnenlicht war in der Kultur, die in der Fluoresceinlösung sich befand, eine geringe Schädigung wahrnehmbar. Eine Abtötung war in allen 5 Versuchen in keinem Fall erfolgt. Wo Sonnenlicht ohne Vorschaltung des Lichtfilters also abtötend gewirkt hatte, war bei Vorschaltung eines Strahlenfilters, bestehend aus einer Lösung von Fluorescein, nur eine geringe Wachstumshemmung zu konstatieren.

B. Versuche mit *Corynebacterium diphtheriae*.

Den hierzu verwendeten Stamm hatte ich aus einer frischen Diphtheriemembran isoliert.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceins.

Die Versuche wurden mit Agar-Agarnährboden, mit Gelatine und Nährbouillon ausgeführt.

2. Versuche mit Agar-Agarnährboden, der mit Fluorescein in verschiedenen Konzentrationen beschickt wurde.

Es wurden dieselben Verdünnungen verwendet, wie bei den Versuchen mit *Bact. typhi*.

Die Ausführung der Versuche war auch im weiteren Verlauf dieselbe wie bei *Bact. typhi*.

Verdünnungen	Makroskopischer Befund
1:100	Kein Wachstum
1:2000	Sehr geringes Wachstum
1:5000	Geringes " "
1:10 000	Mäßig gutes " "
1:60 000	Gutes Wachstum
1:100 000	" "
1:500 000	" "
1:1 000 000	" "

Kontrolle:

Auf allen 3 ungefärbten Röhren sehr gutes Wachstum.

Die Kulturen waren in den Konzentrationen 1:100—1:5000 schwach gelb gefärbt. Gegenüber *Bact. typhi* erwies sich *Corynebact. diphtheriae* als empfindlicher.

Die mikroskopische Untersuchung ergab eine äußerst schwach sichtbare Strukturierung des Bakterienkörpers, die wegen der geringen Aufnahme des Fluoresceins nur wenig hervortrat. Eine Beeinflussung der Form, der Größe des Bakterienkörpers ließ sich nicht konstatieren.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceins auf *Corynebacterium diphtheriae*.

Die Versuche wurden mit Agar-Agarnährboden, mit Gelatine und Nährbouillon ausgeführt.

1. Versuche mit Agar-Agarnährboden, der mit Fluorescein in verschiedenen Konzentrationen beschickt wurde.

Die Herstellung des Fluoresceinagars war dieselbe, wie bei den Untersuchungen mit *Bact. typhi*, ebenso die übrige Versuchsanordnung:

Dauer der Exposition (diffuses Tageslicht) 24 Stunden			
Verdünnungen	Hell	Dunkel	
1:100	Kein Wachstum	Kein	Wachstum
1:1000	" "	" "	" "
1:2000	" "	" "	" "
1:5000	Sehr geringes Wachstum	Geringes	" "
1:10 000	Geringes Wachstum	Mäßiges	" "
1:60 000	Mäßiges " "	Gutes	" "
1:100 000	Gutes Wachstum	" "	" "
1:500 000	" "	" "	" "
1:1 000 000	" "	" "	" "

Dauer der Exposition 48 Stunden

1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	" "	" "
1:2000	" "	" "
1:5000	Sehr geringes Wachstum	Geringes Wachstum
1:10 000	" "	" "
1:60 000	Geringes "Wachstum"	Gutes "Wachstum"
1:100 000	Gutes Wachstum	" "
1:500 000	" "	" "
1:1 000 000	" "	" "

Als Kontrollplatten dienten zu jeder Expositionszeit je 3 Platten. Wachstumshemmung ließ sich bei 24-stündiger Exposition nicht wahrnehmen; bei 48-stündiger Exposition trat ein kleiner Unterschied hervor. Es war eine, wenn auch geringe, Wachstumshemmung eingetreten.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins war auf *Corynebacterium diphtheriae* stärker als auf *Bact. typhi*.

Auch *Corynebacterium diphtheriae* erwies sich diffusem Tageslicht gegenüber als ziemlich resistent. Eine Abtötung konnte selbst nach 4-tägiger Exposition nicht erzielt werden. Im Sonnenlicht konnte nach 10-stündiger Exposition kein Wachstum mehr wahrgenommen werden.

2. Versuche mit Gelatinenährboden, der mit Fluorescein in verschiedener Konzentration beschickt worden war.

Die Ausführung war dieselbe, wie bei Agar-Agar-nährboden.

Dauer der Exposition 24 Stunden
(ohne Vorschaltung von Strahlenfiltern).

Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	" "	" "
1:2000	" "	" "
1:5000	Sehr schwaches Wachstum	Mäßiges "
1:10 000	Geringes Wachstum	Gutes "
1:60 000	Gutes Wachstum	" "
1:100 000	" "	" "
1:500 000	" "	" "
1:1 000 000	" "	" "

Dauer der Exposition 48 Stunden

1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	" "	" "
1:2000	Sehr schwaches Wachstum	" "
1:5000	Geringes Wachstum	Gutes "
1:10 000	" "	" "
1:60 000	Gutes "Wachstum"	" "
1:100 000	" "	" "
1:500 000	" "	" "
1:1 000 000	" "	" "

Merkwürdig war bei dieser Versuchsreihe, daß in der Verdünnung 1:2000 in den belichteten Platten ein, wenn auch geringes, Wachstum eingetreten war, während in der unbelichteten Platte kein Wachstum zu konstatieren war, daß in diesem Fall die photodynamische Wirkung nicht eine wachstumshemmende gewesen war, sondern eine wachstumsfördernde.

In einem weiteren Versuch, der mit derselben Verdünnung zur genaueren Orientierung angestellt worden war, zeigte sich jedoch das Verhältnis nicht wieder, so daß dieses sehr auffallende Ergebnis wohl als eine Zufälligkeit betrachtet werden muß, hervorgerufen vielleicht dadurch,

daß bei der Bestreichung der Platten relativ mehr Diphtheriebacillen auf die der Belichtung auszusetzenden Platte kamen, als auf die zur Aufbewahrung im Dunkeln bestimmten.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins war auch bei Benützung von Gelatinenährboden gering. In der Verdünnung 1:100 bis 1:2000 hatte es giftig gewirkt.

3. Versuche mit Bouillonröhren, die mit Fluorescein in verschiedener Konzentration beschickt worden waren.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei *Bact. typhi*.

Das Resultat war folgendes:

Dauer der Exposition 24 Stunden			
Verdünnungen	Hell	Dunkel	
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum	
1:1000			
1:2000	Vereinzelte Kolonien	Vereinzelte Kolonien	
1:5000	"	Zahlreiche Kolonien	
1:10 000	Zahlreiche Kolonien	" "	
1:60 000	" "	" "	
1:100 000	" "	" "	
1:500 000	" "	" "	
1:1 000 000	" "	" "	

Die Kontrollröhren, deren Versuchsanordnung dieselbe war wie bei *Bact. typhi*, zeigten nach der Exposition von 24 Stunden gutes Wachstum.

Dauer der Exposition 48 Stunden			
Verdünnungen	Hell	Dunkel	
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum	
1:1000		Vereinzelte Kolonien	
1:2000	Spärliche Kolonien	" "	
1:5000	"	" "	
1:10 000	Zahlreiche Kolonien	Zahlreiche Kolonien	
1:60 000	" "	" "	
1:100 000	" "	" "	
1:500 000	" "	" "	
1:1 000 000	" "	" "	

Kontrollröhren zeigten nach 48-stündiger Exposition gutes Wachstum.

Dauer der Exposition 72 Stunden			
Verdünnungen	Hell	Dunkel	
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum	
1:1000			
1:2000	Spärliche Kolonien	Zahlreiche Kolonien	
1:5000	Vereinzelte "	" "	
1:10 000	Zahlreiche "	" "	
1:60 000	" "	" "	
1:100 000	" "	" "	
1:500 000	" "	" "	
1:1 000 000	" "	" "	

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins war nach 72-stündiger Exposition in diffusum Tageslicht besser zum Ausdruck gekommen, als bei kürzerer Exposition. Immerhin war sie auch bei dieser Expositionszeit gegenüber einigen anderen weiter unten beschriebenen Präparaten gering.

Um zu untersuchen, ob die von der fluoreszierenden Lösung ausgehenden Strahlen einen Einfluß auf das Wachstum von *Corynebacterium diphtheriae* ausüben, wurde der bei *Bact. typhi* beschriebene Versuch auch beim Diphtheriebacillus wiederholt.

Eine Wachstumshemmung konnte selbst nach mehrtägiger Exposition bei Anwendung von Agarkulturen, Gelatinekulturen, Bouillonkulturen nicht beobachtet werden.

Abtötung der Diphtheriebakterien erfolgte bei Anwendung von Sonnenlicht nach 10 Stunden.

C. Versuche mit *Sarcina flava*.

Nach meinen Versuchen (59) über die Einwirkung von Kristallviolett auf verschiedene aus der Butter isolierten Bakterien war es mir interessant, auch die Einwirkung der photodynamischen Substanzen auf die teilweise sehr resistenten Arten zu untersuchen.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceins auf *Sarcina flava*.

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei *Bact. typhi*.

Konzentration	Makroskopischer Befund
1:100	Spärliches Wachstum
1:1000	Gutes Wachstum
1:2000	" "
1:5000	" "
1:10 000	" "
1:60 000	" "
1:100 000	Sehr gutes Wachstum
1:500 000	" " "
1:1 000 000	" " "

Kontrolle:

Auf allen 3 ungefärbten Röhren sehr gutes Wachstum.

Die Farbe der Kulturen war deutlich erhalten. Eine bemerkbare Einwirkung des Fluoresceins war nur bei der Konzentration 1:100 zu konstatieren. Das Fluorescein wirkte also nicht so giftig auf *Sarcina flava* wie auf *Bact. typhi* und *Corynebacterium diphtheriae*.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceins auf *Sarcina flava*.

Die Versuche wurden mit Agar-Agarnährboden, mit Gelatine und Nährbouillon ausgeführt.

1. Versuche mit Agar-Agarnährboden, der mit Fluorescein beschickt wurde.

Dauer der Exposition 24 Stunden		
Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Spärliches Wachstum	Spärliches Wachstum
1:1000	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:2000	" "	" "

In den übrigen Verdünnungen ließen sich keine Wachstumsunterschiede unter den exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen.

Als Kontrollplatten dienten 3 Petri-Platten, die, mit nichtgefärbtem Agar gefüllt, diffusem Tageslicht ausgesetzt wurden. Eine Wachstumshemmung ließ sich nach 24 Stunden nicht wahrnehmen.

Dauer der Exposition 48 Stunden		
Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Spärliches Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:2000	" "	" "
1:5000	" "	" "

In den übrigen Verdünnungen war das Wachstum auf den exponierten und nicht exponierten Platten gleich gut.

Die photodynamische Wirkung war demnach äußerst gering. Selbst bei mehrtägiger Exposition ließen sich keine Unterschiede konstatieren.

2. Versuche mit Gelatinenährboden.

Die Ausführung war dieselbe wie bei Agarnährboden:

Unterschiede gegenüber dem Wachstum auf Agar-Agarnährboden traten nicht hervor.

3. Versuche mit Bouillonröhren.

Unterschiede gegenüber dem Wachstum auf Agar-Agarnährboden traten nicht hervor.

Zur Untersuchung der von der Fluoresceinlösung ausgehenden Strahlen und ihrer Einwirkung auf *Sarcina flava* wurde derselbe Versuch wie bei *Bact. typhi* und *Corynebacterium diphtheriae* angestellt. Eine Einwirkung konnte nicht wahrgenommen werden.

Eine Abtötung erfolgte im Sonnenlicht erst nach 36-stündiger Exposition.

(Schluß folgt.)

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Bernbach, P., Ueber Pyocyanase, p. 355.

Friedberger, E. und Moersch, C., Ueber Hämolyse beschleunigende Immunsustanzen, p. 346.

— — und **Pinczower, E.**, Ueber die Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper, p. 352.

Kraus, E. und Russ, V. K., Ueber Toxine und Antitoxine des Choleravibrio. (Forts.), p. 332.

Levy, E. und Granström-Woskoboinikow, Ueber die Infektion begünstigende, aggressinartige Wirkung der Filtrate junger Bouillonkulturen, p. 360.

Lucksch, Franz, Ueber aktive Immuni-

sierung des Menschen gegen bacilläre Dysenterie, p. 365.

Moriya, Goto, Impftuberkulose der Kaltblüter, p. 294.

Reitz, Adolf, Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen • Sensibilisatoren). (Forts.), p. 374.

Siegel, J., Experimentelle Studien über Syphilis. II. (Forts.), p. 301.

Stigell, B., Ueber die Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven einiger Bakterien, p. 289.

Vryburg, A., Zwei neue Nematoden im Darmkanal des Rindes in Deli-Sumatra, p. 321.

Nachdruck verboten.

Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktus ¹⁾).

[Aus dem Kais. Gesundheitsamt.]

Von Dr. F. Dieterlen,

k. württ. Oberarzt, komm. zum Kais. Gesundheitsamt.

Bei den Studien über die Durchlässigkeit der Magendarmschleimhaut für Bakterien hat sich bis jetzt eine Fehlerquelle niemals ganz sicher ausschließen lassen, die nämlich, daß trotz aller Vorsichtsmaßregeln bei der Verfütterung von Keimen per os es vorkommen kann, daß einzelne Keime durch Aspiration in die Lungen gelangen. Ficker ²⁾ fand bei seinen überaus zahlreichen und exakten Versuchen die verfütterten Keime oft schon nach kurzer Zeit in den Lungen und führt diese Tatsache auf indirekte Aspiration von Futterresten zurück.

Uffenheimer ³⁾ wollte in seinen Versuchen, wie er in einem Vortrag auf der 78. Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte in Stuttgart erwähnte, diese Fehlerquelle dadurch ausschließen, daß er die Keime nicht per os, sondern per rectum dem Versuchstier verabreichte.

Aber trotz aller Vorsichtsmaßregeln fanden sich auch bei diesen Versuchen die Keime schon nach 4 Stunden in beiden Lungen vor. Er fand die eingespritzten Keime aber auch in den oberen Partien des Darmes und im Magen. Daraus zog er den bedeutungsvollen Schluß, daß die Keime durch den Darm entgegen der Peristaltik und durch Magen, Oesophagus und Trachea in die Lungen gelangen können.

Für korpuskuläre Elemente wurde schon vor langer Zeit vom Physiologen Grützner festgestellt, daß kleine Partikelchen, die man in einem Klysma Tieren beibringt, nach kurzer Zeit schon im Magen nachgewiesen werden können. Aus diesen Resultaten Grützners geht hervor, daß es sich beim Emporsteigen der Bakterien nicht etwa um ein aktives Emporwandern handelt, ebenso können, wie auch Grützner u. A. annehmen, nicht antiperistaltische Bewegungen in Betracht kommen, sondern man muß annehmen, daß die Bakterien an der Darmwand mit der Flüssigkeit aufsteigen, während der zentrale Darminhalt durch die wurmartigen Bewegungen des Darmes nach abwärts gedrängt wird. Man wird in dieser Auffassung bestärkt, wenn man einem frisch getöteten Meerschweinchen die Bauchhöhle eröffnet und die peristaltischen Bewegungen des Darmes verfolgt; man sieht nämlich, während sich der Darminhalt nach abwärts bewegt, an der Darmwand eine rückläufige Bewegung der Flüssigkeit, die jedesmal wieder stockt, sobald die peristaltische Bewegung nach abwärts von neuem beginnt.

Wenn sich die Uffenheimerschen Resultate bestätigen, so sind

1) Vortrag, gehalten in der Sektion I des XIV. internat. Kongresses für Hygiene und Demographie.

2) Arch. f. Hyg. Bd. LII. ff.

3) Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1851.

die Konsequenzen, die man daraus ziehen muß, für die Lehre von den Infektionswegen, namentlich der Tuberkulose, von großer Bedeutung.

Ich habe nun in der letzten Zeit im Kaiserlichen Gesundheitsamt eine Nachprüfung der Uffenheimerschen Versuche angestellt, deren Resultate, soweit sie bis jetzt abgeschlossen sind, ich im folgenden mitteilen möchte¹⁾.

Bei der Ausführung dieser Versuche war ich mir der zahlreichen Fehlerquellen und der Schwierigkeit, vollständig einwandfrei zu arbeiten, wohl bewußt. Auf die ganze Methodik kann ich hier nicht näher eingehen. Ich verweise auf die Arbeiten von Ficker, der eine exakte Technik für die ganzen Versuche ausgearbeitet hat. Nur bei genauem Einhalten dieser Technik ist es möglich, die überaus zahlreichen Fehlerquellen so gut wie völlig auszuschließen.

Als Versuchstier verwendete ich zuerst, wie Uffenheimer, das Kaninchen, als Keimmaterial vorwiegend den *Prodigosus*. Ich stellte mir eine Aufschwemmung von 1–10 gut gewachsenen purpurroten *Prodigosus*-Kartoffelflächen in 10 ccm physiologischer NaCl-Lösung her und verabreichte sie durch einen weichen Nélaton-Katheter dem Tier als Klysma. Es wurden so im ganzen 6 Versuche angestellt. Bei allen 6 Versuchen konnte ich nach 4 Stunden die Keime in den Lungen nachweisen, nie dagegen im Herzblut. In fast allen Fällen konnte ich die Anwesenheit der *Prodigosus*-Keime im ganzen Verdauungskanal feststellen, also in erster Linie im Dickdarm, dann auch im Dünndarm, Magen und Oesophagus, ebenso aber auch in der Trachea. Die übrigen Organe waren in 4 Fällen vollständig frei von *Prodigosus*. In der Leber konnte ich den *Prodigosus* 2mal, in Mesenterialdrüse, Niere und Milz je 1mal nachweisen.

An Kaninchen machte ich ferner 2 Versuche mit einem sehr virulenten Geflügelcholera Stamm. Die Anwesenheit der Keime in den einzelnen Organen wurde nach Anreicherung in Bouillon dadurch geprüft, daß eine Oese der Bouillon nach 2 Tagen auf Mäuse verimpft wurde. Der Versuch war positiv, wenn die Mäuse nach spätestens 48 Stunden eingingen und aus dem Herzblut derselben eine Geflügelcholeraeinkultur gezüchtet werden konnte. — Auch hier waren die Keime in den Lungen und im Verdauungskanal, nicht dagegen im Herzblut und in den anderen Organen nachzuweisen.

Endlich benutzte ich als Injektionsmaterial eine Tuberkelbacillenaufschwemmung einer Glycerinbouillonkultur vom Typus *humanus*. Bis jetzt habe ich einen Versuch am Kaninchen angestellt. Die Organe wurden auf je zwei Meerschweinchen verimpft. Von den Tieren wurden krank: die mit Dickdarm, Magen, Oesophagus, linker Lunge und Mesenterialdrüse geimpften Tiere. Gesund blieben die mit Herzblut, Niere, Uterus und rechter Lunge geimpften Tiere.

Um dem Einwand, daß — trotz aller Vorsichtsmaßregeln — die Keime doch auf dem Blutwege in die Lungen gelangt sein könnten, vorzubeugen, machte ich, wie schon Uffenheimer, verschiedene Versuche mit unterbundenem Oesophagus, und zwar 2 Versuche mit *Prodigosus*, 1 mit Geflügelcholera und 1 mit Tuberkelbacillen.

Den *Prodigosus* fand ich in einem Fall nur im Magen, in der Mesenterialdrüse und im Oesophagus direkt unterhalb der Abbindungs-

1) Die ausführliche Arbeit erscheint später in den Arbeiten aus dem Kaiserlichen Gesundheitsamt.

stelle, nicht dagegen in den Lungen, der Trachea und im Oesophagus oberhalb der Abbindungsstelle. Auch die übrigen Organe waren frei von *Prodigiosus*. Im zweiten Fall konnte ich den *Prodigiosus* nur im Dickdarm nachweisen, sonst nirgends. — Die Geflügelcholera-keime fand ich bei unterbundenem Oesophagus nur im Dickdarm, die Lungen und die übrigen Organe waren frei. Der Tuberkelbacillenversuch mit unterbundenem Oesophagus ist jetzt ebenfalls abgeschlossen. Die Tiere wurden nach 12 Wochen getötet. Krank waren nur die Tiere, die mit Dickdarm und Magen geimpft waren.

Es ist nun von großem Interesse festzustellen, wie sich andere Tiere bezüglich des Emporsteigens der Bakterien verhalten, deshalb stellte ich noch Versuche an Ziegen, Meerschweinchen, Hunden und Katzen an.

An Ziegen ist bis jetzt 1 Versuch mit *Prodigiosus* abgeschlossen. Die Keime fanden sich in folgenden Organen: Dickdarm, Dünndarm, Magen, Trachea und linker Lunge, nicht dagegen im Herzblut, Mesenterialdrüse und den übrigen Organen.

Am Meerschweinchen, das sich für derartige Versuche weniger eignet, machte ich nur einen Versuch, und zwar mit Geflügelcholera. Ich konnte die Keime nachweisen im Dickdarm, Magen, Oesophagus, Trachea, linker Lunge und Niere, nicht dagegen in Mesenterialdrüse und rechter Lunge.

An Hunden und Katzen machte ich bis jetzt im ganzen 3 Versuche mit *Prodigiosus*. Ich fand den *Prodigiosus* bei dem einen Hund nur im Dickdarm, beim anderen nur in der Mesenterialdrüse. Bei der Katze konnte ich den *Prodigiosus* überhaupt nicht wiederfinden.

Es besteht also ein Unterschied zwischen Kaninchen, Ziegen und Meerschweinchen, also Pflanzenfressern einerseits und Katzen und Hunden, also Fleischfressern andererseits. Es liegen zwei Möglichkeiten vor, entweder steigen die Keime beim Fleischfresser überhaupt nicht auf oder sie werden durch den stark alkalischen Darm- oder stark sauren Magensaft der Fleischfresser abgetötet. Welches von beiden zutrifft, wird der Versuch am Hund mit Tuberkelbacillen erweisen, denn der Tuberkelbacillus ist infolge seiner Wachshülle jedenfalls viel widerstandsfähiger als der *Prodigiosus* und behält trotz des sauren Magensaftes seine Lebensfähigkeit.

Beim Menschen scheint ein Emporsteigen von Partikelchen vom Magen in die Mundhöhle ebenfalls vorzukommen. In neuester Zeit hat Kast¹⁾ aus der Ewaldschen Klinik eine Arbeit veröffentlicht, in der er seine Beobachtungen am Menschen schildert. Er will durch das Emporsteigen der Keime aus dem Verdauungskanal in die Mundhöhle die belegte Zunge bei verschiedenen Magen- und Darmstörungen erklären.

Es wäre interessant, festzustellen, ob auch bei Infektionskrankheiten, wie Typhus, Cholera, die pathogenen Keime bis in die Mundhöhle emporsteigen. Wäre dies der Fall, so würden sich daraus für die Vorsichtsmaßregeln und für die Desinfektionsanordnungen ganz neue Gesichtspunkte ergeben.

1) Berl. klin. Wochenschr. 1906.

Nachdruck verboten.

Einfluss der Toxine des Pestbacillus auf die Kreislaufsorgane.

[Institut für allgemeine Pathologie der Kgl. Universität zu Neapel.
Direktor: Prof. G. Galeotti.]

Von **C. De Fanis.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz - Berlin.

Mit den vorliegenden Untersuchungen beabsichtige ich die Wirkung von Pestkulturfiltraten auf den Kreislauf, und zwar besonders auf den Blutdruck bei Hunden zu studieren, denen man diese Filtrate intravenös injiziert hat. Bevor ich die Resultate meiner Versuche auseinandersetze, halte ich die Angabe folgender bibliographischer Daten für angebracht.

Viele Versuche wurden in den Laboratorien zur Isolierung und zum Studium der extracellulären Toxine des Pestbacillus angestellt. Yersin, Calmette und Borrel filtrierten Bouillonkulturen dieses Mikroorganismus und injizierten das Filtrat den Versuchstieren, ohne indessen irgend eine toxische Wirkung bemerken zu können. Dagegen gelang es ihnen, mittels der Inokulation des Filterrückstandes (Bakterienkörper) Meerschweinchen und Kaninchen zu töten. Die deutsche Kommission in Indien experimentierte mit Bouillonkulturen und sah, daß das Filtrat 10 Tage alter Kulturen für Affen und Kaninchen sogar in einer Dosis von 5 ccm unschädlich war. Ließ man jedoch die Kulturen älter (6 Wochen alt) werden, so konnte man bei Ratten den Beginn einer toxischen Wirkung nachweisen. Wernicke erhielt ungefähr die gleichen Resultate. Die jungen Kulturen zeigten sich fast ganz unschädlich. Aus anderen Kulturen, die (wenigstens um 14 Tage) älter waren, gewann er mittels eines besonderen Verfahrens ein Gift, das im stande war, eine Maus in einer Dose von 0,1 ccm in 5—6 Tagen zu töten; das Tier zeigte dann eine Anschwellung der Lymphdrüsen. Es scheint also, daß die Toxine in dem Filtrat frischer Bouillonkulturen fehlen, daß sie dagegen aufzutreten beginnen, wenn die Kulturen älter werden. Es müssen wenigstens 5 Tage vergehen, bis sich bei intraperitonealen Injektionen in einer Dosis von 0,5 ccm die giftige Wirkung zu zeigen beginnt. Unter diesen Umständen tritt der Tod des Tieres langsam, nach einigen Wochen, infolge einer mit Krämpfen verbundenen Kachexie ein. Werden die Kulturen immer älter, so kann man den Tod der Tiere in 24 und schließlich sogar in 6—7 Stunden herbeiführen. Die anatomischen, durch das Gift hervorgerufenen Veränderungen sind nicht immer gleich. Bei Mäusen überwiegt die fettige Degeneration der Leber, bei Ratten die blutigen Infiltrationen und der Milztumor. Die alten, mazerierten, erwärmten und filtrierten Agarkulturen besitzen dieselben Eigenschaften. Markl hat festgestellt, daß, wenn man die Kulturen mit Chloroform behandelt, ihre giftige Wirkung bedeutend gesteigert wird. Die kleinste Dosis für Mäuse sinkt bis auf 0,02 ccm für eine 6 Wochen alte Kultur. Die größte Giftigkeit besitzen 2 Monate alte Bouillonkulturen. Die Toxine werden durch die Temperatur beträchtlich beeinflusst, d. h. bei Erhöhung derselben sehr geschwächt. Bei Siedetemperatur wird jegliche Giftigkeit unmittelbar vernichtet, aber auch eine Temperatur von 37—40° ist einer guten Konservierung des toxischen Prinzips schon sehr hinder-

lich. Außer der Temperatur scheint auch die Luft einen Einfluß auf die Bildung des Giftes zu haben, denn es besteht eine direkte Beziehung zwischen der Giftigkeit der Kultur und der der Luft ausgesetzten Oberfläche. Unter allerseits günstigen Bedingungen beobachtete Markl, daß frische, 24 Stunden alte, flüssige Kulturen schon giftige Bestandteile enthalten können. Nach seiner Meinung besteht das Pestgift zum großen Teile, wenigstens im Anfange, aus Sekretionsprodukten (Toxinen), die sich in dem Nährboden gebildet haben, und hierzu gesellen sich dann später die eigenen Produkte der Bakterienleiber (Nukleoproteide), wodurch dann ein Gemisch entsteht, dessen größte giftige Komponente wahrscheinlich auf die letzteren Produkte zurückzuführen ist. Eine andere Tatsache wurde noch von Markl behauptet, nämlich das Fehlen einer Wechselbeziehung zwischen Giftproduktion und Infektiosität der Kultur. Es kann passieren, daß die Toxine sich in den tiefen Schichten der Nährböden ablagern und die ganze Kultur sehr virulent bleibt. Die Toxizität des Bacillus schwächt sich bei successiven Uebertragungen auf neue Nährböden immer mehr ab, bis sie schließlich fast ganz und gar erlischt; sie kann aber wieder ihren ursprünglichen Grad erreichen, wenn man die Kulturen auf Tiere verimpft. Das Toxin, das sich in den Filtraten findet, verliert bei Erwärmung auf 70° jede Wirksamkeit für Mäuse, behält sie aber für Meerschweinchen und Kaninchen. Diese Tatsache könnte uns den Gedanken an eine komplizierte Zusammensetzung des in Rede stehenden Giftes nahelegen. Es könnte in der Tat aus mehreren Toxinen bestehen, von denen eins oder mehrere stark wirksam für eine besondere Tierart sind, für eine andere dagegen wieder nicht. Jedenfalls scheint es jetzt festgestellt zu sein, daß die toxischen Produkte des Pestbacillus, wie es auch bei den anderen Mikroorganismen der Fall ist, zweierlei Art sind, d. h. sie bestehen erstens aus dem Bestandteile des Pestbacillus selbst, der ein Nukleoproteid ist, und zweitens aus den löslichen Toxinen, welche das Stoffwechselprodukt der Bakterienzellen darstellen. Das toxische Nukleoproteid, welches sich so leicht herstellen und isolieren läßt (Lustig und Galeotti), ist in erschöpfender Weise studiert worden, und zwar ist hauptsächlich, besonders durch die Arbeiten von Lustig, Galeotti und Polverini, seine Wirkung auf das Herz und das Gefäßsystem festgestellt worden. Da nun aber mit den Toxinen, die sich in den Filtraten der Bouillonkulturen finden, eine ähnliche Prüfung bis jetzt noch nicht vorgenommen worden ist, so habe ich zur Ausfüllung dieser Lücke die vorliegenden Untersuchungen angestellt.

Untersuchungsmethode.

Mit einer virulenten Pestkultur habe ich einige, 500 ccm Bouillon enthaltende, Erlenmeyersche Kolben geimpft und sie im Brutschranke bei 37° ungefähr 3 Wochen lang gehalten. Darauf habe ich diese Kulturen durch Chamberland-Kerzen F filtriert und mit dem so gewonnenen Filtrat meine Versuche angestellt. Als Versuchstiere verwandte ich ziemlich kleine Hunde, deren Körpergewicht zwischen 4 und 6 kg schwankte. Nach Freilegung der Carotis und der Vena cruralis wurde in die erste eine gewöhnliche T-förmige Kanüle des Manometers von François Frank und in die zweite eine durch einen Gummischlauch mit einer Bürette verbundene Kanüle eingeführt; aus der Bürette ließ man dann im geeigneten Augenblicke die eben erwähnten Filtrate herausfließen. Vor der Injektion wurde die Rektaltemperatur, die Zahl der Herzschläge und der Atemzüge und der Blutdruck notiert

Die Temperatur wurde auf einem Thermometer abgelesen, welches man während der ganzen Versuchsdauer im Rectum liegen ließ. Für die Aufzeichnungen habe ich mich, wie gesagt, des auf einem rotierenden Cylinder schreibenden Manometers von François Frank bedient, auf dessen mit dem Manometerrohr verbundener Skala man bequem den Blutdruck in Centimetern Hg ablesen kann.

Versuch I (27. März 1906).

Junger Wolfshund, Bastard, Gewicht 6,800 kg. Vor der Injektion des Toxins in die Vene wird die Temperatur, die Zahl der Herzschläge und der Atemzüge und der Blutdruck notiert; von letzterem wird eine Kurve aufgenommen. In die Vena cruralis werden langsam 50 ccm Toxin injiziert. In der Tabelle I sind alle Versuchsdaten angegeben.

Der Versuch hat 3 Stunden gedauert. Aus den Angaben der Temperatur, des Blutdruckes, des Pulses und der Atemzüge ergibt sich folgendes:

Der Blutdruck sinkt sofort nach der Injektion des Toxins rasch und erheblich. Nach seiner Kurve zeigt er Schwankungen, bei denen man sein Bestreben sieht, zu dem normalen Grade zurückzukehren, was ihm indessen niemals gelingt. Die größte Höhe des Blutdruckes beträgt 18 cm Hg.

Die Temperatur sinkt nach der Injektion, erreicht jedoch am Ende des Versuches wieder ihre normale Höhe. Die Pulszahl zeigt eine beträchtliche Steigerung.

Die Frequenz der Atemzüge ist unregelmäßig. Nach der Injektion sinkt sie, hebt sich dann wieder, sinkt von neuem und erreicht schließlich am Ende des Versuches ihre normale Höhe.

Bei der Prüfung der verschiedenen, während des Versuches gewonnenen Aufzeichnungen ergibt sich, daß gleich nach der Injektion eine beträchtliche Herzarhythmie, verbunden mit einer starken Blutdruckerniedrigung, besteht. Die Pulswellen werden kaum wahrnehmbar, also langsamer, nach einer Viertelstunde beginnen sie wieder regelmäßig und höher zu werden, ohne daß jedoch die Herzstätigkeit zu ihrem ursprünglichen Zustande zurückkehrt.

Tabelle I.

Zeit	Blutdruck	Temperatur	Puls	Atemzüge i. d. Minute
Vor der Injektion	19	38,6	95	18
Gleich nach der Injektion	13	38,3	96	16
Nach 15 Minuten	17	38,2	80	18
Nach 30 Minuten	16	38	120	20
Nach 45 Minuten	12	38,1	160	24
Nach 1 Stunde	15	38,4	147	15
Nach 1 Stunde 15 Minuten	15	39	120	16
Nach 1 Stunde 30 Minuten	15	39	120	16
Nach 1 Stunde 45 Minuten	16	39,3	108	16
Nach 2 Stunden 15 Minuten	18	38,9	96	16
Nach 3 Stunden	17	38,6	120	18

Versuch II (29. März 1906).

Junger Hofhund, Bastard, Gewicht 6 kg. Injektion von 50 ccm Toxin in die Vena cruralis. Der Versuch hat 3 Stunden 45 Minuten gedauert. Der Blutdruck sinkt rasch nach der Injektion. Seine Kurve zeigt verschiedene Schwankungen, ohne die normale Höhe wieder zu erreichen. Auch die Temperatur des Tieres sinkt nach der Injektion, steigt aber rasch wieder und nähert sich der normalen Höhe, um darauf von neuem zu sinken und dann wieder langsam bis auf 39,2° zu steigen. Die Pulszahl schwankt merklich; nach der Injektion besteht eine Abnahme, dann folgt eine Rückkehr zur normalen Zahl und darauf eine neue Senkung der Kurve. Die Frequenz der Atemzüge bleibt immer, wenn auch mit Schwankungen, oberhalb der normalen Höhe. In den letzten Perioden des Versuches besteht Dyspnoe. Bei der Prüfung der Aufzeichnungen ergibt sich, daß der unmittelbare Einfluß der Injektion weniger erheblich gewesen ist, denn bei diesem Hunde hat nur eine Abnahme der Tiefe der Atmung stattgefunden, während die Pulswellen sich nur wenig geändert haben. Sie beginnen dagegen kleiner und langsamer zu werden, wenn die Respiration ein wenig beschleunigt, also eine Periode der Unregelmäßigkeit im Atmungsrythmus eingetreten ist. Die

Pulswellen erscheinen niedriger während der beschleunigten Atembewegungen und höher in den kurzen Atmungspausen. Endlich, ungefähr 3 Stunden nach der Injektion, ist in der Herzstätigkeit eine beträchtliche Unregelmäßigkeit eingetreten, welche sowohl die Stärke als auch die Häufigkeit der Kontraktionen betrifft, so daß man einen arhythmischen und unregelmäßigen Puls erhält.

Tabelle II.

Zeit	Blutdruck	Temperatur	Puls	Atemzüge i. d. Minute
Vor der Injektion	17	39,4	144	16
Nach der Injektion	7	38,5	132	28
Nach 15 Minuten	13	39,3	132	20
Nach 30 Minuten	13	39,4	104	20
Nach 45 Minuten	13	39,3	112	20
Nach 1 Stunde	12	39,2	144	20
Nach 1 Stunde 15 Minuten	10	39,1	144	28
Nach 1 Stunde 30 Minuten	8	38,8	144	28
Nach 1 Stunde 45 Minuten	10	38,6	152	20
Nach 2 Stunden	11	38,7	120	20
Nach 2 Stunden 15 Minuten	11	38,7	136	20
Nach 2 Stunden 30 Minuten	13	38,7	136	20
Nach 2 Stunden 45 Minuten	14	39,9	120	20
Nach 3 Stunden	13	38,9	80	20
Nach 3 Stunden 15 Minuten	14	39,2	120	20

Versuch III.

Ich habe mich desselben Hundes wie beim Versuche I bedient. Sein Körpergewicht hat keine Schwankungen erlitten. Der Versuch hat 1 Stunde 15 Minuten gedauert. Auch bei diesem Versuche bleibt die Kurve des Blutdruckes und der Temperatur immer unterhalb des normalen Wertes. Die Pulszahl sinkt nach der Injektion und zeigt verschiedene Schwankungen. Die Zahl der Atemzüge bleibt immer niedrig. Der Hund wird getötet; bei der Autopsie finden sich keine bemerkenswerten Besonderheiten. Bei der Prüfung der Aufzeichnungen ergibt sich, daß diese zweite Toxininjektion bei dem Hunde, den ich schon bei dem ersten Versuche gebraucht habe, nicht mehr jene Funktionsveränderungen am Herzen hervorrief, die ich beim ersten Versuche beobachten konnte.

Tabelle III.

Zeit	Blutdruck	Temperatur	Puls	Atemzüge i. d. Minute
Vor der Injektion	18	38,8	172	14
Nach der Injektion	13	36,8	136	10
Nach 15 Minuten	13	37,1	136	12
Nach 30 Minuten	12	38	152	12
Nach 45 Minuten	14	38,4	192	10
Nach 1 Stunde 15 Minuten	16	38,4	158	10

Versuch IV (31. März 1906).

Bastardhündin, Gewicht 6 kg. Der Versuch hat 2 Stunden gedauert. Der Blutdruck und die Temperatur verhalten sich wie bei den vorhergehenden Versuchen. Es findet nur in diesem Falle ein größerer Abfall der Temperatur statt. Die Pulszahl steigt nach der Injektion, die Atemfrequenz dagegen sinkt.

Bei der Prüfung der Aufzeichnungen sieht man, daß ungefähr 15 Minuten nach der Injektion die Pulswellen niedriger als bei den normalen Kurven sind, und daß sie dann mit dem Wiederausteigen des Blutdruckes etwas höher werden, während der Einfluß der Respiration in der sphygmographischen Kurve stärker wird.

Tabelle IV.

Zeit	Blutdruck	Temperatur	Puls	Atemzüge i. d. Minute
Vor der Injektion	15	37,5	120	20
Nach der Injektion	9	35,8	136	14
Nach 15 Minuten	14	35,5	136	14
Nach 30 Minuten	14	35,6	144	12
Nach 45 Minuten	12	35,6	144	12
Nach 1 Stunde	12	36	120	14
Nach 1 Stunde 15 Minuten	13	36	136	12
Nach 1 Stunde 30 Minuten	12	36	120	14
Nach 2 Stunden	12	34,8	136	12

Schlußfolgerungen.

Vor allen Dingen muß man die Resultate dieser Versuche mit denjenigen vergleichen, die Lustig und Galeotti erhalten haben; diese haben zwar ihre Untersuchungen in analoger Weise angestellt, aber mit den Nukleoproteiden des Pestbacillus operiert. Hierbei fanden sie: 1) eine beträchtliche Erniedrigung der Temperatur; 2) ein Sinken des arteriellen Druckes, das unmittelbar nach der endovenösen und langsam und progressiv nach der intraperitonealen Injektion eintritt; 3) eine Abnahme der Höhe der Herzkontraktionen. In den in der Arbeit dieser Autoren wiedergegebenen Aufzeichnungen kann man die progressive Abnahme der Herzstätigkeit bis zu ihrem völligen Erlöschen sehen; diese Versuchsergebnisse stimmen mit den klinischen Beobachtungen von Galeotti und Polverini an Kranken mit Bubonepest überein, bei denen man die Kreislauffunktionen mittels geeigneter Sphygmographen untersucht hatte. Aus meinen Versuchen, die mit den toxischen filtrierbaren Produkten des Pestbacillus angestellt worden sind, geht folgendes hervor: Auch diese Produkte haben einen Einfluß auf die Kreislauforgane in dem Sinne, daß sie anfangs den Blutdruck und die Intensität der Herzkontraktionen vermindern, indessen sind diese Störungen viel leichter, als nach der Injektion der Nukleoproteide und außerdem sind sie nur vorübergehend, denn bei allen von mir angestellten Versuchen habe ich gesehen, daß nach 1—3 Stunden die Herzfunktion wieder eine gute Beschaffenheit annimmt, wenn auch die Pulsfrequenz ein wenig höher und der Blutdruck ein wenig niedriger als normal bleibt, während, wie beim zweiten Versuche, Erscheinungen von Arrhythmie und Ungleichheit des Pulses auftreten.

Der dritte Versuch, zu dem ein Hund verwendet worden ist, welcher bereits eine Injektion des Pestbacillentoxins erhalten hatte, läßt erkennen, daß die Tiere sich sehr rasch diesen filtrierbaren toxischen Produkten anpassen, denn die Wirkung der zweiten Injektion auf den Hund ist viel weniger schwer als die der ersten.

Aus alledem kann man schließen, daß von den toxischen Produkten des Pestbacillus diejenigen, welche aus der Stoffwechseltätigkeit der Bakterien selbst herrühren, d. h. die filtrierbaren Toxine, viel weniger aktiv und schädlich sind, als diejenigen, welche von den Bestandteilen der Bakterienzellen selbst abstammen, d. h. die Nukleoproteide; hieraus läßt sich nun ferner der Schluß ziehen, daß auch bei der spontanen Pest die Erscheinungen an den Kreislauforganen, welche alle anderen überwiegen und an Schwere übertreffen, eher auf die Nukleoproteide als auf die filtrierbaren Toxine zurückzuführen sind.

Literatur.

- Lustig u. Galeotti, Versuche mit Pestschutzimpfungen bei Tieren. (Deutsche med. Wochenschr. 1897.)
- Galeotti, On the action of plague toxin on the circulatory system. (The Bombay medical-physical Society. Vol. II. 1898. No. 8.)
- Wernicke, Ueber Immunisierungsversuche bei der Beulenpest. (Sitz.-Ber. d. nat.-med. Ges. Marburg 1898. Ref. in Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1898.)
- Markl, Beitrag zur Kenntnis der Pesttoxine. (Deutsche med. Wochenschr. 1897.)
- , Ueber die Pesttoxine und die Gewinnung von antitoxischem Pestserum. (Wiener med. Wochenschr. 1900.)
- , Weitere Untersuchungen über die Pesttoxine. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII. 1901.)
- Lustig e Galeotti, Intorno all'azione del nucleoproteide estratto dai bacilli della peste bubbonica sul sistema circolatorio. (Sperimentale [Archivo di Biologia]. Anno LII. 1898. Fasc. I.)
- Galeotti e Polverini, Sui disturbi dell'apparato circolatorio nei malati di peste bubbonica. Firenze 1898.
- —, Sui primi 175 casi di peste bubbonica trattati nel 1898 in Bombay col siero preparato nel Laboratorio di Patologia generale di Firenze. (Pubblicazioni del R. Istituto di studii superiori pratici di perfezionamento in Firenze. Firenze 1898).

*Nachdruck verboten.***Zur Histologie der Hühnerpest.**

[Aus dem staatlichen serotherapeutischen Institut zu Wien (Leiter: Prof. R. Paltauf).]

Von Dr. **Josef Schiffmann.**

Mit 1 Tafel.

Pathologisch-histologische Untersuchungen bei Tieren, die an Hühnerpest eingegangen waren, sind bis in neuere Zeit nur in geringem Umfang angestellt worden.

Rosenthal hat Veränderungen um die Gefäße des Gehirns beschrieben, die eine gewisse Analogie mit denen bei Lyssa zu haben scheinen. Er arbeitete mit einem abgeschwächten Virus, das Hühner nach verlängerter Krankheitsdauer tötete. Er hebt hervor, daß in diesen Gewebsveränderungen um die Gefäße, die mehr oder weniger den Charakter eines Infiltrates haben, mit Kernfarbstoffen äußerst dunkel gefärbte, intracellulär gelagerte Punkte verschiedener Größe zu finden sind, die nach seiner Ansicht vielleicht in einer gewissen Relation zum Erreger stehen.

Verf. hat in Gehirnschnitten von Gänsen, die an Hühnerpest eingegangen waren, morphologisch streng präzisierte „Körperchen“ beschrieben, die sich in besonders distinkter Weise mit einem Pyronin-Methylgrüngemisch darstellen ließen, aus einer homogen erscheinenden Grundmasse und aus deutlich und scharf konturierten Innengebilden bestehen, Körperchen, die Verf. weder bei normalen Gänsen noch bei hühnerpesterkrankten Hühnern auffinden konnte.

Kleine hat, wie in meiner vorläufigen Mitteilung fast wörtlich zitiert, andeutungsweise Gebilde beschrieben, die mich einen Vergleich schwer ziehen ließen, es fehlte ja doch vor allem eine Erwähnung der so charakteristischen Innengebilde und Angaben über Kontrollversuche.

In einer privaten Mitteilung an mich meint Herr Dr. Möllers, daß es sich offenbar um die gleichen Gebilde handelt, die Kleine gesehen, und daß seither angestellte Kontrolluntersuchungen bei anderen

Tieren negative Befunde ergeben hätten. Doch in dem nach Erscheinen meiner vorläufigen Mitteilung herausgegebenen Band des Kolle-Wassermannschen Handbuchs sagt Frosch im Kapitel „Lyssa“: „Nur bei der Hühnerpest sind von F. Kleine Gebilde gefunden (bestätigt durch Rosenthal), die eine gewisse Ähnlichkeit mit den Negrischen Körperchen zeigen. Sie unterscheiden sich von ihnen durch ihre auch extracelluläre Lage und das Fehlen der Struktur.“ Nun aber macht Rosenthal in seiner äußerst präzise gehaltenen Arbeit gar keine Erwähnung von Körperchen, wie ich sie beschrieben, und von einem Fehlen der Struktur kann bei den von mir geschilderten Gebilden wohl kaum die Rede sein, so daß auch jetzt, da eine diesbezügliche Arbeit Kleines meines Wissens nicht erschienen ist, ein Vergleich schwer möglich ist.

Die nun folgenden histologischen Untersuchungen sind hauptsächlich auf die nähere Ergründung der Körperchen gerichtet.

Methode.

Zunächst einiges über die Darstellung der Körperchen. Sie lassen sich mit allen landläufigen Methoden, so Hämalun-Eosin, Saffranin, Methylenblau etc. färben. Die Mannsche Methode leistet keine hervorragenden Dienste, hingegen gibt die Färbung mit einem Gemische von Pyronin und Methylgrün, ursprünglich von mir zur Färbung etwaiger Plasmazellen in den Zellansammlungen angewendet, in ihrer höchst einfachen Technik so vorzüglich distinkte Resultate, daß ich in letzter Zeit, wenn nicht andere Zwecke es erheischen, nur diese angewendet habe. Damit gute Resultate erzielt werden, muß folgendes beobachtet werden: Es wird in Alkohol fixiert, hierauf folgt meist mittels der Acetonmethode Einbettung in Paraffin. Die Schnitte wurden im allgemeinen in einer Dicke von $4\ \mu$ angefertigt.

Die Farblösung in der von Pappenheim angegebenen Zusammensetzung sowie die käufliche Pyronin-Methylgrünlösung gab mir keine guten Resultate. Ich nehme auf 100 g Leitungswasser 1 Gramm Pyronin und ebensoviel Methylgrün (beides Grübler). Die Lösung hat eine tief violette Farbe. Es wird möglichst lange gefärbt, nicht unter 10 Minuten. Eine Ueberfärbung ist ausgeschlossen. Die Lösung muß vor dem Gebrauche nicht filtriert werden. Es wird dann rasch mit absolutem Alkohol der überschüssige Farbstoff entfernt und zugleich entwässert und mit Xylol aufgehellt. Es erscheint das Protoplasma der Ganglienzellen rot, die Chromatinschollen, die Nukleolen dunkelrot, die Gliazellkerne blau, die Kerne der roten Blutkörperchen blaugrün, die Hühnerpestkörperchen mit rotvioletter Grundmasse und tiefblau, resp. rötlichblau konturierten Innengebilden. Die Differenzierung mit Alkohol absol. muß rasch vor sich gehen, da sonst leicht zu starke Entfärbung eintritt; durch diese Differenzierung andererseits erklärt es sich, daß mitunter Stellen im Präparate zu stark entfärbt sind und auch in der violetten Farbe der Grundmasse in verschiedenen Schnitten mitunter mehr der blaue, mitunter mehr der rote Farbton überwiegt.

Es empfiehlt sich, einen Probeschnitt zu färben, falls die vorher geschilderte Färbung nicht erreicht ist, Pyronin resp. Methylgrün der Lösung zuzusetzen.

Die Betrachtung geschieht am besten und leichtesten bei hellem künstlichen Licht und es sind bei Immersion und Okular 2 (Zeiss) alle Details genügend sichtbar.

Beschreibung der Körperchen.

Die Beschreibung der charakteristischen Eigenschaften der Körperchen wurde bereits in der vorläufigen Mitteilung gegeben. Zur Untersuchung gelangte zunächst das Zentralnervensystem von Gänsen, die mit Hühnerpestvirus intramuskulär geimpft worden waren. Als Virus diente fast ausschließlich das vom Innsbrucker hygienischen Institut stammende; es wurden aber auch Kontrollversuche mit einem Berliner Virus gemacht¹⁾.

Die Körperchen sind scharf konturiert; ihre Form ist oval, rund, auch polygonal; überwiegend ist die ovale Form. Ihre Größe erreicht selten 20 μ , beträgt durchschnittlich 8–12 μ . Die Grundmasse ist homogen, hyalin. Den auffallendsten Befund bilden die Innengebilde, die in dieser Grundmasse liegen. Als einfachste Form der Innengebilde muß ein mit der Pyronin-Methylgrünmethode tiefblau gefärbter Punkt bezeichnet werden; eine andere Form ist die Ringform; der Durchmesser eines Ringes beträgt meist 1–2 μ .

Der Kontur des Ringes, der nicht immer kreisrund, sondern häufig oval oder birnförmig verzogen ist, ist nicht gleichmäßig zart, sondern stellenweise verdickt, stellenweise zeigt er scharfe, punktförmige Anlagerungen. Dann kombinieren sich häufig solche Ringe, indem sie tangential oder sich schneidend aneinander gelagert sind. An den Schnittstellen pflegt dann der Kontur verdickt zu sein. Auch Rosettenformen kommen häufig vor, meist jedoch nur in den großen Körperchen. Auch hier sind die Konturen nicht gleichmäßig zart, sondern es pflegen beim Zusammentreffen mehrerer Liniensysteme flächenartige Verbreitungen sich zu bilden, und es ist der Kontur dieser rosettenförmigen Innengebilde häufig nicht tiefblau, sondern mehr violett gefärbt. Die Zahl der Innengebilde ist eine wechselnde, meist befinden sich in einem Körperchen mehrere.

Der Vollständigkeit halber möge noch erwähnt werden, daß die Körperchen von normalen Ganglienzellkernen sowohl tinktoriell als morphologisch völlig verschieden sind.

Eine gewisse oberflächliche Ähnlichkeit besteht zwischen den kleinen, nur einfache Ringe enthaltenden Körperchen und Zellkernen, wahrscheinlich Gliazellen angehörig, die sich in ihrer Substanz tief violett färben und einen resp. zwei ring- oder punktförmige Nukleolen enthalten. Doch zeigt auch hier genauere Beobachtung deutliche Unterschiede. Die Grundmasse der Körperchen ist homogen, die der Zellkerne feinkörnig, auch ist der variabel dicke, nicht immer streng kreisförmige Kontur der Innengebilde deutlich verschieden von dem gleichmäßigen, kreisrunden der Nukleolen. Bei den größeren Körperchen mit ihren komplizierten Innengebilden ist eine Verwechslung mit diesen Zellkernen wohl ausgeschlossen.

Was die Lokalisation anbelangt, so finden sich die Körperchen in großer Zahl im Großhirn, Mittelhirn, Kleinhirn und verlängerten Mark. Die Untersuchungen betreffs des Rückenmarks können nicht als abgeschlossen bezeichnet werden, da nur in 2 Fällen das Rückenmark untersucht wurde, und zwar nach Fixation in Zenkerscher Flüssigkeit. In den untersuchten Schnitten des Rückenmarkes konnte ich bisher weder Veränderungen um die Gefäße noch Körperchen finden.

1) Sowohl Herrn Prof. Lode als auch Herrn Oberarzt Möllers sage ich für die freundliche Uebersendung des Virusmaterials meinen besten Dank.

Die Körperchen sind nicht gleichmäßig auf den Organdurchschnitt verteilt, sondern herdweise gelagert. So fand ich sie im Großhirn in größter Anzahl gegen den orbitalen Anteil hin; im Kleinhirn finden sie sich am seltensten in der Körnerschicht, öfter in den Purkinjeschen Zellen, am zahlreichsten in den zellärmeren Partien. Im verlängerten Mark konnte ich eine bestimmte Lokalisation nicht finden. Ein gewisser, wenn auch nicht ganz konstanter Zusammenhang zwischen dem Vorkommen der Körperchen und den Gefäßveränderungen läßt sich wohl nicht von der Hand weisen, indem die Körperchen in der Nähe der Gefäßveränderungen sich mitunter auffallend zahlreich finden. Es sind nämlich die Gefäße in analoger Weise, wie wir es bei der Lyssa sehen können, nicht etwa alle gleichmäßig von Zellherden umgeben, sondern es finden sich Gefäße verschiedenen Kalibers, die vollständig normal in unverändertem Gewebe liegen, während in nächster Nähe ein Gefäß von einem Zellinfiltrat umgeben ist. Es genügte bei Präparaten, in denen sich die Körperchen nicht zahlreich fanden, häufig mit schwacher Vergrößerung ein von einem Zellherd umgebenes Gefäß aufzusuchen, um dann am gleichen Orte mit Sicherheit bei starker Vergrößerung Körperchen nachweisen zu können.

Nicht ganz leicht gestaltet sich die Frage nach der Lage der Körperchen in Bezug auf die Ganglienzelle. Ziemlich eindeutige Befunde konnte ich im Kleinhirn und im verlängerten Mark erheben. Im Kleinhirn zeigt sich, daß ein Teil der Körperchen im Ganglienzellprotoplasma, so auch im Protoplasma Purkinjescher Zellen zu liegen kommt, ein Teil, wie auch in Schnitten des verlängerten Marks deutlich zu sehen, frei im Gewebe liegt. Auffallend war es, daß in den Fällen sicherer intracellulärer Lagerung das Protoplasma der Ganglienzellen nicht merklich verändert war, ein Kern, ja auch Kernreste sich mit Sicherheit neben dem Körperchen nicht konstatieren ließ, auch fand sich stets nur ein Körperchen in einer Zelle; bei Anfertigung der Präparate ließ sich beobachten, daß die in den Zellen gelegenen Körperchen der Differenzierung mit Alkohol stärkeren Widerstand entgegengesetzten als die extracellulären.

Neben dieser sicheren intra- resp. extracellulären Lagerung gibt es eine große Anzahl von Körperchen, denen fetzige Anteile verdichteten, anscheinend protoplasmatischen Gewebes anliegen, so daß sich hier nicht bestimmt sagen läßt, ob die Körperchen frei im Gewebe liegen, oder, wie in der vorläufigen Mitteilung bereits angedeutet, in einem degenerierten, zu Grunde gehenden Protoplasma sich befinden.

Im Zentralnervensystem normaler Gänse gelang es mir nicht, ähnliche Körperchen zu finden.

Da es nun wichtig erschien, ein Bild von der Genese der Körperchen zu erhalten und hiernit vielleicht der Frage nach der Natur dieser Körperchen näher zu kommen, wurde folgende Versuchsreihe eingeschlagen: Es wurden mit einem Hühnervirus einige Gänse intramuskulär infiziert, nach einer bestimmten Zeit getötet, die Infektiosität des Gehirnes und Blutes bestimmt und daran die histologische Untersuchung des Zentralnervensystems angeschlossen.

Gans I nach 54 Stunden getötet;

Huhn 1, mit Blut infiziert, nach 2 Tagen tot;

Huhn 2, mit Gehirnemulsion infiziert, bleibt am Leben.

- Gans II nach 72 Stunden getötet;
Huhn 1, mit Blut infiziert, nach 3 Tagen tot;
Huhn 2, mit Gehirnemulsion infiziert, bleibt am Leben.
Gans III nach 96 Stunden getötet;
Huhn 1, mit Blut infiziert, nach 2 Tagen tot;
Huhn 2, mit Gehirnemulsion infiziert, bleibt am Leben.
Gans IV nach 120 Stunden getötet;
Huhn 1, mit Blut infiziert, nach 6 Tagen tot;
Huhn 2, mit Gehirnemulsion infiziert, nach 4 Tagen tot.
Gans V nach 144 Stunden getötet;
Huhn 1, mit Blut infiziert, nach 4 Tagen tot;
Huhn 2, mit Gehirnemulsion infiziert, nach 3 Tagen tot.

Eine Gans wurde nach 10 Tagen getötet, es erwies sich weder ihr Gehirn noch auch das Blut virulent, auch histologisch wies das Gehirn keinerlei Veränderungen auf.

Diese Versuche bestätigen einerseits die von Kleine gefundene Tatsache des Wanderns des Virus im Körper der intramuskulär infizierten jungen Gans. Der Umstand andererseits, daß eine Gans überhaupt nicht erkrankte, erweckte den Verdacht, daß vielleicht das Virus nicht tödlich, die Versuchstiere zu alt waren. Da es sich mir aber vorwiegend darum handelt, die histologischen Veränderungen am Gehirn, das eben infektiös geworden ist, zu erheben, glaube ich, daß diese Versuchsreihe darum nicht wertlos ist. Jedenfalls müssen zu geeigneter Zeit diese Versuche an ganz jungen Tieren wiederholt werden.

Gleich im voraus möge erwähnt werden, daß infektiöses Blut mit verschiedenen Methoden wiederholt untersucht wurde, ohne daß im Blutbild irgend ein fremder Bestandteil konstatiert werden konnte.

Im Zentralnervensystem von Gans I, II und III, deren Blut zwar infektiös, deren Gehirn jedoch nicht infektiös war, konnte ich keine histologischen Veränderungen konstatieren. Es fanden sich weder Körperchen noch Zellherde um die Gefäße.

Hingegen konnten bei Gans IV und V, deren Gehirn bereits, Hühnern intramuskulär injiziert, als infektiös sich erwies, histologische Veränderungen des Zentralnervensystems konstatiert werden. Da das histologische Bild bei beiden sich nicht merklich unterscheidet, möge es gemeinsam besprochen werden.

Schon bei schwacher Vergrößerung sieht man im Großhirn, Kleinhirn und Mittelhirn deutliche Zellansammlungen um manche Gefäße, und zwar sind es vorwiegend Kapillargefäße; im Großhirn sind hauptsächlich die Gefäße, welche etwa im Zentrum des Großhirndurchschnittes sich befinden, betroffen. Im Rückenmark konnte ich keine Veränderungen um die Gefäße finden. In diesen Zellansammlungen fallen insbesondere folgende Gebilde auf: Ihre Form ist meist rund, ihr Durchmesser meist 5–6 μ , doch kommen auch größere und kleinere Formen vor. Sie färben sich mit der Methylgrün-Pyroninmethode lichtrot, mit unter mit einem Stich ins Violette, und zwar ganz gleichmäßig ohne Körnelung; die Färbung ist eine zumeist sehr zarte. Von diesem blaßroten Untergrund heben sich nun stark dunkelblau gefärbte, scharf konturierte Pünktchen verschiedener Größe ab. Die einen sind von der Größe des Durchschnittes eines Erythrocytenkernes und liegen dann meist einzeln oder zu zweit in der roten Grundsubstanz, die in diesem Fall dann häufig nur in Form eines schwach rot gefärbten Streifens um den

blauen Punkt liegt und bei mangelhafter Färbung überhaupt nicht zur Darstellung kommt. Oder die Pünktchen sind bedeutend kleiner und liegen zu mehreren entweder randständig oder in der Mitte der diesfalls deutlicher sichtbaren Grundsubstanz. Die Form der blauen Punkte ist meist kreisrund, doch kommen auch Halbmond-, sehr selten Ringformen vor. Diese Ringformen unterscheiden sich von den Innengebilden der früher beschriebenen ausgebildeten Körperchen durch ihren breiten Kontur. Von Kerndurchschnitten roter Blutkörperchen unterscheiden sich die Punkte durch ihre dunkle Färbung, den Mangel an Struktur, die ja bei Kerndurchschnitten und gelungener Färbung stets deutlich zum Ausdruck kommt, ferner dadurch, daß das Protoplasma der roten Blutkörperchen sich mit dem Pyronin-Methylgrüngemisch nicht färbt. In großer Anzahl finden sich diese Gebilde in den Zellanhäufungen, jedoch auch in ihrer Nähe in normalem Gehirngewebe; in größerer Entfernung von den affizierten Gefäßen konnte ich sie nur selten finden. Erwähnen möchte ich noch rote, homogene, runde oder mehr ovale Körperchen von der Größe eines Erythrocytenkernes, die in ihrem Inneren keinen blau gefärbten Punkt aufweisen, jedoch meist in der Nähe der eben beschriebenen Gebilde zu finden sind.

Ich glaube, daß ich es hier mit den gleichen Gebilden zu tun habe, die Rosenthal in den Gehirnschnitten der Hühner mit verlängerter Krankheitsdauer beschrieben hat. Er fand in den Zellherden intracellulär gelagerte, mit Kernfarbstoffen dunkel gefärbte Körner von 3μ Größe und darunter, meist rund, mitunter auch halbmondförmig mit scharfem Kontur. Die kleineren liegen in Haufen beisammen. Ueber ihre Bedeutung macht Rosenthal keine entschiedenen Angaben, es wäre möglich, daß es sich um pyknotische Kerne handle, vielleicht stehen sie auch in einer gewissen Relation zum Erreger.

Nachdem diese Befunde bei den im Verlauf der Krankheit getöteten Tieren erhoben wurden, schien es wichtig, nach ähnlichen Bildern bei den an Hühnerpest zu Grunde gegangenen jungen Gänsen zu suchen. Auch hier fanden sich neben den anfangs beschriebenen Körperchen die bei Gans IV und V geschilderten Gebilde in den Zellherden und in ihrer nächsten Umgebung allerdings in geringerer Anzahl als bei Gans IV und V auch in verschwindend geringer Anzahl gegen die ausgebildeten Körperchen.

Ueber die Deutung der bei Gans IV und V beschriebenen Gebilde, ich will sie der Kürze halber als Körperchen mit punktförmigen Innengebilden bezeichnen, möge am Schluß noch im Zusammenhang gesprochen werden.

Ich will noch erwähnen, daß ich bei Gans IV und V in dem Gefäßlumen nie Körperchen mit punktförmigen Innengebilden sah, daß ferner die Ganglienzellkerne keine wie immer geartete Veränderung aufwiesen.

Zur Untersuchung gelangte ferner das Zentralnervensystem einer Gans, die nach überstandener schwerer Krankheit im Stadium der Rekonvaleszenz getötet worden war. Es betraf dies eine Gans, die, mit Hühnerpestvirus intramuskulär infiziert, 7 Tage nach der Infektion schwere Krankheitssymptome aufwies, so Blindheit und Lähmungen. Sie erholte sich jedoch wieder und wurde 14 Tage nach der Infektion, als bereits keine pathologischen Symptome zu beobachten waren, durch Verbluten getötet. Die Gehirnemulsion dieser Gans erwies sich

bei intramuskulärer Injektion einem Huhn gegenüber als nicht infektiös, indem dieses am Leben blieb.

Das Gehirn der Gans wies schwere pathologische Veränderungen auf, die sich kurz in folgendem zusammenfassen lassen. Schon bei schwacher Vergrößerung sind außerordentlich auffallend die Zellansammlungen; sie lassen verschiedene Grade erkennen; Zellansammlungen um die Gefäße, wie wir sie bei den an Hühnerpest zu Grunde gegangenen Gänsen gefunden haben, doch auch viel mächtigere Zellherde, bei denen sich ein zentrales Gefäß nicht immer mit Sicherheit erkennen läßt, und die sich auf größere Gehirnpartien erstrecken. Von den infiltrierten Gefäßen der Pia ziehen streckenweise radienförmig in das Gehirngewebe Züge eines breitmäschigen Gewebes, jungem Gliagewebe gleichend. In diesem Zuge findet man einerseits Kapillaren von Zellen umgeben, andererseits rundliche Gebilde von Ganglienzellgröße, gleichmäßig fein granuliert, in denen man hier und da noch Kernreste finden kann, die sich wohl deutlich als degenerierte Ganglienzellen dokumentieren.

Spezifische Körperchen, auch Körperchen mit punktförmigen Innengebilden, konnte ich nicht finden.

Alte Gänse, die intramuskulär mit Hühnerpest nicht infizierbar sind, lassen sich, wie Kraus und Schiffmann zeigen konnten, von der Subdura aus infizieren. Doch besitzt das auf diese Weise gewonnene Gänsevirus andere Eigenschaften als das durch intramuskuläre Infektion erhaltene. Auch ist die Krankheitsdauer kürzer, bei den intramuskulär geimpften Gänsen 7—8 Tage, bei den subdural infizierten Gänsen 3 bis 4 Tage. Die histologischen Veränderungen am Gehirn waren sehr spärlich. Von 5 untersuchten Tieren war bei dreien der histologische Befund, sowohl was Zellansammlung um die Gefäße als was Körperchen anbelangt, negativ. Bei 2 Gänsen fanden sich die ersten Anfänge von Zellansammlungen um die Gefäße und auch äußerst spärlich Körperchen; diese waren jedoch klein und die Innengebilde meist ring- oder punktförmig.

Zur Untersuchung gelangte ferner eine Anzahl von Hühnern, die, mit Hühnerpest intramuskulär infiziert, nach 3—4 Tagen eingegangen waren. Sie wiesen fast ausnahmslos pathologisch-histologische Veränderungen im Zentralnervensystem auf.

Es fanden sich bei einer Anzahl von ihnen Zellherde, wie bei den an Hühnerpest eingegangenen Gänsen, fast durchweg jedoch auch Veränderungen, die wir als Nekrose bezeichnen müssen. Die Pyronin-Methylgrünmethode eignet sich zum Studium dieser Veränderungen nicht gut, da sie die Zwischensubstanz nur äußerst blaß darstellt; Hämalau-Eosinfärbung, auch die Mannsche Methode leistet hier bessere Dienste. Schon bei schwacher Vergrößerung sieht man ziemlich zirkumskripte Stellen, die schwächer gefärbt erscheinen als die Umgebung. Bei starker Vergrößerung sieht man an diesen Stellen das Gewebe meist schollig verändert, im Gegensatz zu den wohlausgebildeten Zellen der nächsten Umgebung in diesen Herden niemals wohlerhaltene Zellen; mitten unter diesen Schollen finden sich zahlreiche, mit Kernfarbstoffen intensiv gefärbte Körner verschiedener Größe; von der Größe eines Erythrocytenkernes und auch kleiner, die jedoch nicht, wie bei Gans IV und V beschrieben, einen weiteren körperlichen Anteil erkennen lassen, in einer

Grundmasse liegen, sondern frei im Gewebe sich finden, die ich wohl als Kernzerfallsprodukte ansehen will.

Es unterscheiden sich also die eben beschriebenen Befunde, Nekrosen und freie Körnchen, von den Befunden Rosenthals, der nicht Nekrosen, sondern Zellherde mit intracellulär gelagerten Körnchen beschrieb. Allerdings war das Virus, daß bei meinen Versuchen zur Verwendung kam, viel wirksamer, und es weist wohl auch das fast völlige Fehlen von Reaktionserscheinungen in der Umgebung dieser Herde auf eine sehr vehemente Einwirkung des Virus hin. Die Nekrosen kommen vorwiegend im Großhirn vor, in einer Reihe von Kleinhirnschnitten konnte ich nur einmal einen nekrotischen Herd, und zwar in der Körnerschicht, finden.

Sowohl die eingangs bei der Gans beschriebenen Körperchen als auch Körperchen mit punktförmigen Innengebilden konnte ich bei Hühnern die nach 3—4 Tagen zu Grunde gegangen waren, nicht bemerken. Veränderungen um die Gefäße in Form von Zellherden, wahrscheinlich eine Vorstufe der Nekrosen, konnte ich bereits bei einem Huhn finden, das 48 Stunden nach der Injektion getötet war, während das Gehirn eines nach 24 Stunden getöteten Huhnes gar keine Veränderungen aufwies.

Wenn wir die Resultate unserer Untersuchungen zusammenfassen, so können wir drei Arten von pathologischen Veränderungen des Zentralnervensystems bei an Hühnerpest verendeten Tieren finden: 1) Normalen Tieren gegenüber spezifische Körperchen, die wir wohl als „Hühnerpestkörperchen“ bezeichnen können. 2) Zellherde, im Anschluß daran die Körperchen mit punktförmigen Innengebilden. 3) Nekrosen.

Die „Hühnerpestkörperchen“ kommen in großer Menge bloß bei den intramuskulär infizierten jungen Gänsen vor, in äußerst geringer Anzahl bei den subdural infizierten alten Gänsen, bei denen sie jedoch auch mitunter ganz fehlen können.

Nekrosen fanden sich fast regelmäßig bei Hühnern, die nach intramuskulärer Injektion nach 3—4 Tagen eingegangen waren. Hingegen konnte ich bei diesen Tieren keine Hühnerpestkörperchen finden.

Zellherde fanden sich bei Hühnern und Gänsen, die intramuskulär infiziert waren. In sehr geringer Ausdehnung waren sie bei subdural infizierten alten Gänsen anzutreffen, wo sie mitunter ganz fehlten.

Körperchen mit punktförmigen Innengebilden fanden sich bei den nach 120 und 144 Stunden getöteten Gänsen und bei denen, die nach intramuskulärer Infektion eingegangen waren.

Die Nekrosen lassen sich mit dem rapiden, außerordentlich kurzen Krankheitsverlauf, der für Hühner offenbar äußerst großen Virulenz bis zu einem gewissen Grade in Zusammenhang bringen; auffallend ist allerdings, daß bei den subdural infizierten alten Gänsen, die auch nach 3—4-tägiger Krankheitsdauer eingingen, keine Nekrosen zu finden waren.

Es bedürfen noch die „Hühnerpestkörperchen“ sowie „die Körperchen mit punktförmigen Innengebilden“ einiger Erörterung.

Man kann wohl die Behauptung mit ziemlicher Sicherheit hinstellen, daß das Vorkommen von Hühnerpestkörperchen mit der Virulenz des Gehirns intramuskulär infizierter Gänse in nahem Zusammenhang steht. Das Gehirn der an Hühnerpest nach intramuskulärer Infektion verendeten Gänse, welches Hühnerpestkörperchen enthielt, erwies sich stets für Hühner virulent; mit dieser Annahme übereinstimmend war das

Gehirn der nach 10 Tagen getöteten Gans, das für Hühner nicht virulent war, auch frei von Hühnerpestkörperchen; auch das Gehirn der im Stadium der Rekonvaleszenz getöteten Gans, das zwar pathologische Veränderungen aufwies, jedoch keine Hühnerpestkörperchen enthielt, war für Hühner nicht infektiös.

Bei Gans IV und V, deren Gehirn und Blut für Hühner infektiös war, fanden sich zwar keine Hühnerpestkörperchen, wohl aber Körperchen mit punktförmigen Innengebilden; letztere kommen auch bei den nach intramuskulärer Infektion zu Grunde gegangenen Gänsen vor. Sie fanden sich nicht bei den in einem früheren Stadium getöteten Gänsen, deren Gehirn nicht infektiös, deren Blut allein infektiös war. Auch das Auftreten dieser Körperchen steht also mit dem Stadium des Virulentwerdens und dem hiermit Hand in Hand gehenden Auftreten der Zellansammlung um Gefäße des Gehirns in Zusammenhang. Eine sichere Deutung dieser Körperchen läßt sich nicht geben. Eine Deutung als pyknotisch veränderte Zellen ist wohl auszuschließen; hiergegen spricht schon der Umstand, daß sie sich auch in ganz kleinen Zellherden und auch in einiger Entfernung von den Zellherden in normalem Gewebe finden, so daß der sonstige Gewebsbefund zu der doch ziemlich intensiven Zellveränderung der Pyknose in keinem Verhältnis steht. Im Gehirn der Hühner, welche Nekrosen aufweisen, fanden sich solche Körperchen nicht, sondern es sind die mit Kernfarbstoffen dunkel gefärbten Körner unregelmäßig unter die Schollen verteilt, nicht in einer hyalinen Grundmasse mit einer gewissen Regelmäßigkeit eingeordnet, und wohl sicher als Kernzerfallsprodukte anzusehen.

Andererseits konnte man die Körperchen mit punktförmigen Innengebilden mit den Hühnerpestkörperchen in Zusammenhang bringen, sie vielleicht als Vorstufen derselben auffassen, und zwar vorwiegend derjenigen, die ganz frei im Gewebe liegen und bei denen eine Entstehung aus dem Kern ausgeschlossen erscheint. Hierfür spräche der schon früher erwähnte Konnex zwischen Auftreten der Körperchen und Virulenz, ferner auch morphologisch eine gewisse Analogie, die rot-violette, nicht gekörnte, scharf begrenzte Grundmasse und die analoge Zahl und Lagerung der ring- resp. rosettenförmigen Innengebilde einerseits, der punktförmigen Innengebilde andererseits in dieser Grundmasse.

Bei einem Teil der Hühnerpestkörperchen liegt die Vermutung nahe, daß der Kern bei ihrer Entstehung beteiligt sei.

Hierfür sprechen die Bilder, bei denen das Körperchen entweder sicher intracellulär liegt, oder scheinbar von Resten von Protoplasma umgeben ist (siehe Abbildung), ohne daß ein Kern oder Kernreste daneben zu finden wären. Jedoch kann eine Beteiligung des Kernes bei der Bildung der Körperchen nicht mit Sicherheit behauptet werden, da Uebergangsbilder von normalen Zellkernen zu ausgebildeten Körperchen bisher nicht gefunden wurden.

Wenn wir nach Analogieen zu den Hühnerpestkörperchen suchen, so müssen wir sie wohl den Guarnierischen, den Negrischen Körperchen etc. anreihen, wie dies bereits von Paltauf vorgeschlagen und von Prowazek vorläufig auch angenommen wurde. Allerdings ist es mir nicht bekannt, daß bei einer Art dieser Körperchen so streng präzisierte Innengebilde vorkommen wie die Ringformen mit ihren aufgesetzten Körnchen bei den Hühnerpestkörperchen. Diese Ringformen erinnern häufig an die Bilder, wie wir sie bei Malaria ringen sehen (vergl. Ruge, Malaria Krankheiten. Taf. III. Fig. 25).

Ein Vergleich der Hühnerpestkörperchen mit den Negrischen Körperchen, bei denen ich über eigene Erfahrung verfüge, ergibt folgendes. Es besteht ein Unterschied zwischen der annähernd konstanten Größe der Hühnerpestkörperchen und der außerordentlich variablen, bis zu den kleinsten Dimensionen herabsinkenden Größe der Negrischen Körperchen. Die Grundmasse beider Arten von Körperchen zeigt keine Struktur, jedoch ist sie bei den Negrischen Körperchen nur auf einen kleinen Teil des Gesamtdurchschnittes beschränkt, der größte Teil wird von den Innengebilden eingenommen, deren ringförmige Begrenzung tinktoriell nicht so leicht deutlich darstellbar ist, und die bei manchen Färbungen mehr als vakuolige Bildungen mit oder ohne eingelagerter Pünktchen (Mann, Bertarelli), bei manchen wieder als größere und kleinere Punkte (Maresch) imponieren, jedenfalls nie aufgelagerte Körnchen oder Unterschiede in der Konturdicke erkennen lassen. Hingegen erscheint bei den Hühnerpestkörperchen im Durchschnitt die Grundmasse prävalierend, die mehr oder minder kompliziert gebauten Innengebilde jedoch, deren Kontur fast bei allen Färbungen scharf ausgeprägt, ungleichmäßig dick ist und fast stets aufgesetzte Pünktchen trägt, sind in dieser Grundmasse in ziemlicher Entfernung voneinander eingestreut, so daß die maulbeerförmige Zeichnung der komplex gebauten Negrischen Körperchen niemals zu stande kommt.

Ein wichtiger Unterschied ist der, daß Negrische Körperchen in größerer Anzahl in einer Zelle vorkommen können und neben ihnen bei geeigneter Schnittführung stets ein wohl ausgebildeter Kern nachweisbar ist. Die Hühnerpestkörperchen jedoch sind bei intracellulärer Lagerung bisher stets in der Einzahl gefunden wurden; ein Kern oder Kernreste sind neben ihnen mit Sicherheit nicht auffindbar.

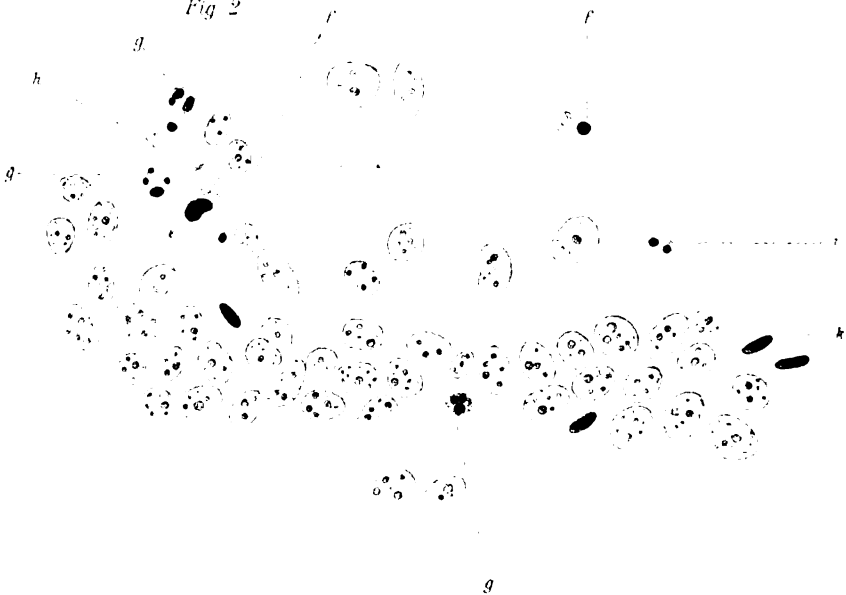
Bei der Lyssa können wir zwei biologisch verschiedene Arten des Virus unterscheiden, das Straßenvirus und das Virus fixe. Bei ersteren finden wir wohl ausnahmslos im Ammonshorn und Kleinhirn reichlich Negrische Körperchen, unter ihnen die größten vorkommenden Exemplare. Bei Virus fixe sind die Versuche im Detail nicht übereinstimmend. Verf. konnte im Ammonshorn und Kleinhirn keine Körperchen finden und brachte dies in Zusammenhang mit der Art des Virus fixe, nicht mit der Krankheitsdauer, da sich bei kürzeren Passagen mit gleich langer Krankheitsdauer reichlich große Körperchen fanden. Bongiovanni hatte gleichfalls negative Befunde. Auch die auf den ersten Blick widersprechenden Befunde von Fursenko lassen sich mit der oben angeführten Ansicht wohl vereinigen, indem bei 10 Tieren 5 in Ammonshorn und Kleinhirn negative Befunde aufwiesen, allerdings fanden sich dann in anderen Anteilen des Zentralnervensystems Körperchen. Man kann also wohl behaupten, daß die Befunde bei Virus fixe sich von denen bei Straßenvirus unterscheiden, insofern als bei Virus fixe zwar Körperchen vorkommen, aber die Befunde in den Gehirnteilen, die bei Straßenvirus die meisten Körperchen enthalten, spärlich resp. negativ sind, und daß die Dimensionen der Körperchen bei Virus fixe kleiner sind.

Auch beim Hühnerpestvirus, insofern es im Zentralnervensystem der Gans lokalisiert ist, können wir zwei biologisch verschiedene Arten unterscheiden (Kraus und Schiffmann), das Virus der intramuskulär infizierten jungen Gans und das Virus der subdural infizierten alten Gans. Im ersten Fall findet man im Gehirn sehr reichlich Hühner-

Fig. 1



Fig. 2



pestkörperchen mit stellenweise sehr komplizierten Innengebilden, im zweiten Fall fehlen die Hühnerpestkörperchen mitunter ganz im Gehirn, mitunter sind sie sehr spärlich und weisen nur einfach gebaute Innengebilde auf.

Literatur.

- Bongiovanni, Die Negrischen Körper und die durch fixes Virus verursachte Wutinfektion mit langsamem Verlauf. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.)
 Fursenko, Ueber die Negrischen Körperchen im Virus fixe. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1907.)
 Kleine, Neue Betrachtungen zu Hühnerpest. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt. 1905.)
 Kraus und Schiffmann, Studien über Immunisierung gegen das Virus der Hühnerpest. (Centralbl. f. Bakt. etc. 1907.)
 Paltauf, Sitzungsbericht der k. k. Gesellschaft der Aerzte Wien. (Wiener klin. Wochenschr. 1906. p. 1299.)
 Prowazek, Ueber Zelleinschlüsse parasitärer Natur beim Trachom. (Arbeiten aus dem kaiserl. Gesundheitsamt. 1907.)
 Rosenthal, Ueber Beziehungen zwischen Hühnerpest und Lyssa. (Centralbl. für Bakt. etc. 1906.)
 Schiffmann, Zur Histologie der Hühnerpest. (Wiener klin. Wochenschr. 1906.)
 —, Zur Kenntnis der Negrischen Tollwutkörperchen. (Zeitschr. f. Hygiene u. Infekt. 1905.)

Beschreibung der Abbildungen.

Abbildung 1. Schnitt durch das Großhirn einer mit Hühnerpestvirus intramuskulär infizierten jungen Gans, nach 8 Tagen eingegangen. Färbung: Pyronin-Methylgrün. Immersion (Zeiss) Okular 4. Links im Gesichtsfeld ein Zellherd um eine Kapillare, in der zwei kernhaltige rote Blutkörperchen sichtbar sind. Oben und unten im Gesichtsfeld je zwei Hühnerpestkörperchen, das linke obere (a) mit einem ringartigen und mit einem rosettenartigen Innengebilde; das rechte obere (b) mit einem rosettenartigen Innengebilde. Sie liegen beide frei im Gewebe. Die beiden unteren Hühnerpestkörperchen scheinen noch von einem Rest von Protoplasma umgeben zu sein, das im Vergleich zum Protoplasma der normalen Ganglienzelle (c) schwach gefärbt und fetzig, nicht scharf konturiert erscheint. Die Innengebilde sind bei dem einen (d) einfache Ringe, bei dem anderen (e) Ringe und Punkte. Die aufgesetzten Pünktchen sind an allen Innengebilden deutlich zu sehen.

Abbildung 2. Schnitt durch das Großhirn einer Gans, die 144 Stunden nach intramuskulärer Infektion mit Hühnerpestvirus getötet wurde. Gleiche Färbung und Vergrößerung wie bei Abbildung 1. Im Schnitt ist ein größerer Zellherd getroffen, unter dessen Zellen die Erythrocyten (k) an ihrem stäbchenförmig-ovalen Kern und dem farblos gebliebenen Protoplasma, jedoch deutlichen Kontur, leicht kenntlich sind. Ferner sieht man Körperchen mit punktförmigen Innengebilden, und zwar mit einem Punkte (f), eines etwas entfernt vom Zellherd liegend, mit zwei (i) und mit mehreren (g) punktförmigen Innengebilden. Ferner die rotviolett gefärbten Körperchen ohne Innengebilde (h).

Nachdruck verboten.

Experimentelle Studien über Syphilis.

[Aus dem Zoologischen Institut der Universität Berlin (Vorstand: Geh. Reg.-Rat Prof. F. E. Schulze).]

II. Der Erreger der Syphilis.

Von J. Siegel.

Mit 4 Abbildungen im Text und 5 Tafeln mit 14 Figuren.

(Schluß.)

Das prinzipielle Unterscheidungsmerkmal des Syphiloms von Tuberkelknoten tritt hier sehr deutlich hervor. Während es im echten Tuberkelknoten sehr bald zu einer Verlegung aller in seinem Bereiche präexistierenden Gefäße kommt, entweder durch Kompression oder Thrombosierung oder Mitbeteiligung der Endothelien an den Wuchervorgängen, zeigt der Gummiknoten, wie hier deutlich ersichtlich ist, nicht nur die präexistierenden Gefäße und zum Teil auch Gallengänge unbeschädigt, sondern es findet sogar eine Neubildung von Kapillaren statt. Das Zellmaterial trägt, wie aus den Photogrammen hervorgeht, den charakteristischen Typus durchwegs kleiner, protoplasmaarmer und spindelförmiger Zellen. Ferner ist typisch für das Syphilom die inselartige Erhaltung fast normal gebliebenen Lebergewebes inmitten der Neubildung und die Erhaltung der ursprünglichen Struktur in gewissem Grade; also alles Punkte, die strenge Unterschiede gegen die Tuberkulose bilden. Das Blut und die übrigen Organe des Pavians waren bakterienfrei wie die Leber. Tuberkelbacillen wurden bei genauester Untersuchung nicht gefunden, ebensowenig Würmer, die bei Affen eventuell in Frage kommen könnten.

Da ich der Ueberzeugung bin, daß diesen beschriebenen Leberbefunden eine große prinzipielle Bedeutung zukommt — sind es doch die ersten, durch Impfung hervorgebrachten sicheren Gummibildungen — habe ich der Beschreibung derselben einen etwas größeren Raum gegönnt und an erläuternden Zeichnungen und Photogrammen nicht gespart. Letzteres aus dem Grunde, weil die bildliche Darstellung jedenfalls am besten geeignet ist, die Beschreibung in ihrer Beweiskraft zu unterstützen.

Die Entstehung der Lebersyphilis beim Menschen ist bekanntlich ein Kapitel, das noch wenig erforscht ist. Meistens trifft man hier nur die hochentwickelten Formen an, so daß es noch eine Lücke auszufüllen gibt. Die Literatur — unter den vielen Autoren hebe ich besonders hervor Tepel und de Ruyter — gibt gerade über die Entstehungszustände wenig Aufschluß; vielleicht ist gerade die Lebersyphilis der Paviane geeignet, diese Lücke auszufüllen. Ich besitze jetzt eine Reihe solcher erkrankten Lebern, die vielleicht als Vertreter der verschiedenen Anfangsstadien in Betracht kommen können. Bekanntlich spricht Bäumler, der auch betont, daß ganz frische Lebersyphilis noch nicht studiert sei, die Vermutung aus, daß Entzündung und Hyperämie das erste Stadium der Lebersyphilis bezeichnen. Für diesen Fall besitze ich ein Präparat, das sehr deutlich neben allgemeinem diffusen Infiltrat die hochgradigste Stauung aufweist. Andere Lebern zeigen mehr beginnende, deutlich sich absetzende periportale Infiltrate, während wiederum

andere die verschiedensten Grade der beginnenden Gummibildung aufweisen. Vielleicht bekomme ich im Laufe der nächsten Zeit noch mehrere derartige Befunde, so daß die Sammlung dieser Lebern später das Material für eine einheitliche und ausführliche anatomische Verarbeitung abgeben könnte.

Im Laufe des letzten Jahres habe ich meine Versuche ausschließlich mit Pavianen vorgenommen, indem ich von der Benutzung der erheblich billigeren Makaken ganz absah. Ich hatte allmählich eingesehen, daß gerade die Paviane, die bei weitem am geeignetsten zur Syphilisverimpfung waren, sich nicht nur am leichtesten an allen Stellen der Haut für Primäraffekte empfänglich zeigten und öfter als andere Affen Sekundärerscheinungen hervorbrachten, sondern auch für tertiäre Syphiliserkrankung am geeignetsten sich erwiesen. Während ich nun der erste war, der die Empfänglichkeit der Kaninchen für Syphilis durch weitere Uebertragung auf Affen nachwies, habe ich in letzter Zeit die Kaninchenversuche als minderwertig ganz vernachlässigt, von der Ueberlegung ausgehend, daß bei der ohnehin geringen Empfänglichkeit aller Tiere für diese, fast nur auf die Menschen beschränkte Krankheit nur die allernützlichsten Tierarten zu Experimenten herangezogen werden sollten, wenn man Fortschritte in der Erforschung dieser Seuche erzielen will.

Andere Experimentatoren, z. B. Bertarelli und Hoffmann, sind in der Reihe der Säugetiere bei der Auswahl ihrer Impfbjekte immer mehr abwärts gestiegen, besonders auf dem Wege der Corneaimpfung vorgehend. Wenn man den Ausführungen dieser Autoren folgen wollte, dann müßten die Kaninchen für die Syphilis noch empfindlicher sein als die Menschen, da bei jenen ja sogar spontane Primäraffekte der Cornea beim Zusammensein mehrerer Tiere in einem Stalle zum Ausbruch gekommen sein sollen (Bertarelli), während beim Menschen wohl an allen anderen Stellen der Körperoberfläche Primäraffekte beobachtet wurden, aber gerade die Cornea sich niemals primär infiziert zeigte. Auch würden nach diesen Autoren die Hunde, ja sogar die Schafe für die Syphilis empfänglicher sein als Affen und Menschen, da sich bei ihnen Primäraffekte an der Cornea mit Leichtigkeit erzielen lassen. Ich dagegen glaube, daß solche Experimente vorläufig zu nichts führen, wo wir erst die Grundlagen der Syphilisätiologie festlegen wollen. Man schließt jetzt vielfach auf Bestehen von Syphilis da, wo Spirochäten gefunden werden, ohne daß man den Beweis geführt hätte, daß die Spirochäten etwas mit der Syphilisätiologie zu tun haben!

Man bewegt sich also dauernd in einem falschen Zirkelschluß. Gerade die Augenimpfungen haben in ihrer weiteren Entwicklung zu der größten Verwirrung geführt. Ursprünglich impfte ich mit Schulze die Iris durch Ritzung und erzeugte dort Knötchenbildungen. Diese hielten wir wegen des histologischen Bildes, wegen der Uebertragungsfähigkeit auf Affen und wegen des Nachweises von Cytorrhysten für syphilitische Produkte. Auf die Keratitis legten wir weniger Gewicht, weil sie nicht regelmäßig vorkam, und weil wir gelegentlich Bakterien, von der Impfschnittstelle ausgehend, vorfanden, während die Iris immer bakterienfrei war. Auch Haensell spricht bei seinen Versuchen immer nur von Iritis und charakteristischen Knötchen in derselben und legt auf die Corneaerkrankung weniger Gewicht. Daß Keratitis sich an Iritis anschließen kann, wird bei Menschen nur in 10 Proz. der Fälle beobachtet (Schubert). Die meisten Ophthalmologen aber, z. B.

v. Hippel, sehen die Keratitis als Metasyphilis, also als Ernährungsstörungen an und nicht für rein syphilitisch, ebensowenig wie die Keratitis neonatorum. Primäraffekte der Cornea bei Menschen gibt es, wie wir oben schon zeigten, wahrscheinlich schon aus rein anatomischen Gründen (Gefäßmangel), überhaupt nicht. Jetzt aber wird die Sachlage so dargestellt, als ob jede Keratitis, wenn sie nur mit syphilitischem Material, das noch dazu Spirochäten enthalten muß, erzeugt ist, ein Primäraffekt sei, weil sich wieder auf der Oberfläche der Cornea mit Giemsa-Lösung dieselben ubiquitären Saprophyten nachweisen lassen. Die Uebertragung von Hautbakterien von einer Hautwunde auf die andere ist doch ein ganz natürlicher und durchaus nicht auffallender Vorgang¹⁾. Bei dem Nachweis der Spirochäten kommen nun die eigentümlichsten Widersprüche zu stande. Tomaszewski findet die Spirochäten mit Giemsa-Färbung, also offenbar wirkliche Spirochäten, auf der Oberfläche der von ihm — im Gegensatz zu den früheren Auffassungen der Augenärzte — gerade für Syphilis charakteristisch gehaltenen Pannusbildung, Stargard jedoch macht darauf aufmerksam, daß die Silber-spirochäten — und beide sollen doch identisch sein — nur in den untersten Schichten der Cornea gefunden werden können.

Daß Mühlens von einem mit Kaninchencorneageschabsel bei einem Affen erzeugten Primäraffekt berichtet — (Kraus gelang es übrigens nicht, von der Kaninchencornea auf Makaken zu übertragen) — beweist nicht unbedingt, daß die Corneaerkrankung spezifisch war. Nachdem ich und Schulze und später Neisser den Nachweis geführt haben, daß beim geimpften Kaninchen die Organe infektiös sein können, liegt natürlich bei der Allgemeininfektion die Möglichkeit vor, mit jedem Körperteil des Kaninchens positiv zu impfen²⁾. Das Resultat der

1) Auch die vor kurzem in der Deutsch. med. Wochenschr. No. 39 von Uhlenhuth, Hoffmann und Weidanz veröffentlichte Arbeit bewegt sich in dem schon so oft festgelegten falschen Zirkel. Sie impften mit spirochätenhaltigem Material und meinen, da sie auf der erkrankten Cornea die Spirochäten nun wiederfanden, die Erreger vor sich zu haben.

Wie ich oben betont habe, wäre doch die Annahme der Uebertragung von saprophytischen Spirochäten von einer Stelle der Haut auf eine andere, also in diesem Falle von einer erkrankten Stelle der Genitalien auf eine erkrankte Stelle der Hornhaut, viel näher liegend. Eine solche Auffassung wird für harmlose Spirochäten vom Pallidatypus schon 1905 von Róna geäußert, welcher meinte, daß die Uebereinstimmung der an den Genitalien beobachteten mit den Mundspirochäten eine sehr große sei, weil in den unteren Volksschichten die Unsitte bestehe, jede Wunde zu belecken u. s. w. Auch Sakurane erklärt in einem Nachtrage zu seiner von mir an einer anderen Stelle dieser Arbeit gewürdigten „vorläufigen Mitteilung über den Spirochätenbefund bei Variola vera“: „Ich bin jetzt mehr geneigt, dieselben (= die zuerst als pallidagleiche erklärten Spirochäten bei Variola vera) für die der Spirochaete pallida nahestehende Spirochaete dentium zu halten, weil es sehr möglich ist, daß der Patient mit dem durch Speichel beschmutzten Nagel die Efflorescenz gekratzt habe.“

Dieser letzte Satz Sakuranes bestätigt übrigens in einwandfreier Weise meine Behauptung, daß die Spirochaete pallida von Mundspirochäten nicht zu unterscheiden ist, was übrigens auch Mühlens in seiner kürzlich erschienenen Arbeit (Zeitschr. f. Hyg. 1907, Heft 3) zugibt, indem er die große Ähnlichkeit gewisser Mundspirochäten, die er die „mittlere Form“ nennt, mit Spirochaete pallida hervorhebt.

In dem Aufsatz von Uhlenhuth, Hoffmann und Weidanz sind übrigens sämtliche Arbeiten über Kaninchenaugenimpfung zitiert, nur die von mir und Schulze werden mit Stillschweigen übergangen, obgleich sie nicht allein bei weitem die ersten waren und den Anstoß zu allen folgenden gaben (Scherber, Neisser, Schucht, Bertarelli), sondern auch gerade, die von den Autoren bei ihren Versuchen angewendeten Methoden zuerst ausgearbeitet haben.

2) Die von Lesser und Greeff vertretene Ansicht, der Prozeß bleibe beim Kaninchen rein lokal, läßt sich angesichts dieser Tatsachen doch wohl ernstlich nicht mehr aufrecht erhalten.

ganzen Keratitisfrage dürfte wohl sein, daß wir bisher überhaupt noch keinen Beweis in Händen haben, ob diese Keratitis direkt überhaupt etwas mit der Syphilis zu tun hat, und daß daher Beobachtungen derselben, vorläufig zu einer Vertiefung unserer Kenntnisse über experimentelle Syphilis etwas beizutragen, nur unter Beobachtung großer Vorsicht geeignet sind.

Praktisch durchaus zuverlässige Verwertbarkeit, etwa wie der Nachweis der Guarnierischen Körper bei Pocken, hat der Cytorrhysten-nachweis bei Syphilis bisher noch nicht gehabt. Die Ursache liegt in der bedeutend geringeren Größe des Cytorrhystes luis und ferner darin, daß ein so ausgezeichnete Nährboden, wie es das Kaninchen-Corneaepithel für Pocken ist, für Syphilis nicht vorliegt. Bekanntlich ist die Diagnosestellung der Pocken mittels Corneaimpfung später als 3 Tage nach der Impfung schon schwieriger wegen der Einwanderung von Leukocyten und anderer Reaktionserscheinungen. Aus demselben Grunde gelingt die Diagnose bei Spontanpocken der Haut nur ganz ausnahmsweise. Wir sehen also auch hier bei einem verwandten Parasiten von größeren Dimensionen, daß die Diagnose nur unter ganz besonders günstigen Nebenumständen gelingt. Daß die Pallida zur Diagnose nicht verwertbar ist, geht hervor aus ihrer immer undeutlicher werdenden Charakteristik („Mittelformen“ mit ausgezogenen Windungen, „Depressionszustände“), ferner aus dem Umstande, daß sie sehr häufig bei sicherer Lues fehlt oder, was noch bedenklicher ist, auch bei anderen Affektionen vorkommt, wie oben ausführlich gezeigt wurde. Manche Autoren fühlen diese Unzulänglichkeit der Diagnostik und möchten die Antigenreaktion zu Hilfe nehmen (Schuster).

Diese Art der Diagnostik, von Wassermann entdeckt und von Neisser außergewöhnlich gerühmt, scheint allerdings nach etwa 1-jähriger Existenz die allgemeine Anerkennung ziemlich verloren zu haben. Schon früher hatten Detre und Kraus betont, daß sie auch bei nicht-syphilitischem Material möglich sei und deswegen erklärt, Zweifel an der Richtigkeit nicht ganz beiseite stellen zu können. Dann haben, nachdem Levaditi erklärt hatte, es sei nicht genügend die Spezifität der Wassermannschen Antigenreaktion für Syphilis bewiesen, Landsteiner, Müller, Poetzel, Kraus, Volk, Ranzi, Weil, Weygand, Michaelis¹⁾ den Nachweis erbracht, daß vorläufig von einer praktisch brauchbaren Methode nicht gesprochen werden könne, da dieselbe Reaktion auch bei nichtsyphilitischen Hirntumoren, spitzen Condylomen und selbst mit normalen Produkten gesehen werden könne²⁾. Auch Plaut gibt an, daß die Anwendung zur Zeit noch mit Schwierigkeiten zu kämpfen habe. Gegen das Bestehen eines spezifischen Antigenstoffes für Syphilis spricht auch der Umstand, daß bei anderen nichtbakteriellen, verwandten Krankheiten, wie Lyssa, die Antigenmethode weder von Heller und Tomarkin noch von Friedeberg als spezifisch anerkannt werden konnte. Fornet und Schereschewski halten es daher für wünschenswert, daß eine andere diagnostische Methode gefunden werde und versprechen eine Serodiagnose

1) Michaelis äußert „berechtigte Zweifel, ob die Reaktion wirklich das Vorhandensein eines Antikörpers gegen den Syphiliserreger oder seine Gifte anzeigt“.

2) Es handelt sich wahrscheinlich um eine Reaktion auf „gelöste Gewebstoffe“, wie Weil meint. Eine ähnliche Auffassung hatten auch wir (s. Diskussionsbemerkung von Saling in der med. Gesellsch. vom 13. März 1907) geäußert, nämlich daß es eine Reaktion auf „Zerfallsstoffe“ wäre.

mittels Erzeugung von Niederschlägen. Nachprüfungen liegen aber noch nicht vor.

Die Versuche Babs¹⁾, die Parasiten- und Erregernatur der Silberspiralen in Kinderleichen mittels der Wassermannschen Antigenreaktion zu beweisen, sind daher hinfällig. Man kann nicht zwei Unbekannte sich gegenseitig legitimieren lassen.

Ueber neue therapeutische Methoden ist nicht viel zu sagen. Es sind in den letzten Jahren — auf die früheren Versuche der Syphilisation von Auzias-Turenne, Boeck u. A. will ich hier nicht weiter eingehen — Versuche, mit virulentem Material die Krankheit zu beeinflussen, unternommen. Versuche mit Präparaten, die von geimpften Tieren gewonnen wurden, hatten weder früher (Héricourt und Richet [s. Gasser 1877]) noch in den letzten Jahren (Risso und Cippolina) besonderen therapeutischen Erfolg. Später glaubte man, abgeschwächte Krankheitstypen bei niederen Tieren zu erzielen und mit den Produkten nach dem Vorbilde der Pockenimpfung die Krankheit beim Menschen zu beeinflussen. Es genügt, darauf hinzuweisen, daß kein Versuch bisher zu befriedigenden Resultaten geführt hat. Auch die Kraus-Spitzerschen Einspritzungen mit Emulsionen von Primäraffekten und Kondylomen bei frisch infizierten Menschen haben zu anerkannten Ergebnissen nicht geführt. Die letzten Impfungen gingen von dem von mir und Neisser als falsch erwiesenen Grundsatz aus, daß virulentes Material, subkutan einverleibt, zu einer Infektion nicht führen könne.

Die nach Fallenlassen der biologisch-therapeutischen Methode von Salmon, Halopeau, Lassar, Uhlenhuth, Lesser, Hoffmann unternommenen Versuche, mit Atoxyl, einem Arsenpräparat, die Syphilis zu behandeln, sind auf der falschen theoretischen Voraussetzung aufgebaut, daß die Syphilis eine Spirochätose ist, und daß die Spirochäten besonders stark durch Arsen beeinflusst würden. Die erste Voraussetzung ist oben genügend widerlegt. Die zweite war auf Grund einiger Versuche mit Hühnerspirillen und besonders auf Grund der hypothetischen Verwandtschaft zwischen Trypanosomen und Spirochäten vorgenommen. Diese hypothetische Verwandtschaft wurde oben als unhaltbar erwiesen, und daß die Spirochäten im Vergleich zu Trypanosomen

1) In seiner neuesten Veröffentlichung in der Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 46 wiederholt Bab den Versuch, Antigenreaktion und Spirochätennachweis in Beziehung zueinander zu bringen, trotzdem in letzter Zeit Wassermann auf dem letzten Hygienekongreß konstatierte, daß er niemals das Antigen als eine Reaktion auf Spirochäten bezeichnet habe, und Citron kürzlich (Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. III. No. 34) sich über die Erregernatur der *Spirochaete pallida* skeptisch äußerte, während Weil neuerdings (Deutsche med. Wochenschr. No. 43) feststellte, daß jetzt von allen Seiten „einmütig zugegeben werde, daß die *Spirochaete pallida* nicht als Antigen anzusehen sei“.

Eine weitere Bemerkung Babs in derselben Veröffentlichung bezüglich „der von der Siegelschen Schule behaupteten Abhängigkeit des Auftretens der Spirochäten von der Mazeration“ stellt sich als eine irrthümliche Auffassung Babs heraus, wie dem aufmerksamen Leser meines vorliegenden Artikels ohne weiteres klar sein wird, so daß ich nur auf den diesbezüglichen Abschnitt zu verweisen brauche.

Außerdem sei darauf hingewiesen, daß Bab, trotzdem von mir und meinen Mitarbeitern immer wieder darauf aufmerksam gemacht wurde, daß die sogenannten „Silberspirochäten“ (= Gewebsfasern, besonders Bindegewebs-, aber auch elastische und Nervenfasern) durchaus nicht ohne weiteres mit echten Spirochäten („Giemsa-Spirochäten“) identifiziert werden dürfen, auf diese Differenzierung gar keine Rücksicht nimmt und so die Verwirrung in der Spirochätenfrage, die allmählich einer klareren Auffassung zu weichen scheint, von neuem begünstigt.

ziemlich unempfindlich gegen Arsen sind, hat Levaditi experimentell nachgewiesen, indem er Trypanosomen und Spirochäten zu gleicher Zeit einem Tiere einspritzte und nach Einwirkung von Arsen beobachtete, daß die Trypanosomen verschwanden, während die Spirochäten ungeschädigt blieben.

Bei Behandlung der menschlichen Syphilis werden Arsenpräparate wohl kaum zur allgemeinen Einführung gelangen, da die mit der Anwendung der allein wirksamen größeren Dosen verbundenen Gefahren zu groß sind. Jedenfalls hat man in den letzten Jahren nicht allein bei der Behandlung der Syphilis mit Arsen (siehe die Zusammenstellung von Langgaard), sondern auch der Augenkrankheiten (Watermann) und der Schlafkrankheit (Ayres Kopke) sehr böse Erfahrungen gemacht.

Speziell bei Behandlung der Syphilis wäre man wohl vorsichtiger vorgegangen, wenn man die ältere Literatur über Arsenbehandlung bei dieser Krankheit gekannt hätte. Mit Hilfe des Prokschschens Handbuches findet man eine so gewaltige Literatursammlung über dieses Thema, daß man sich ein vollständiges Bild von den Möglichkeiten und Schädlichkeiten der Arsenbehandlung bei Syphilis machen kann. So fand ich denn, daß schon im Jahre 1623 David Planiskampi zu Paris (s. Horn), dann 1790 Athar Ali Khan (s. Remer) und besonders ausführlich 1807 Horn die Arsenbehandlung der Syphilis probierten. Mein Assistent Jancke hatte daher schon am 21. Juni 1907 in der Berliner militärärztlichen Gesellschaft darauf hingewiesen, daß die Atoxylbehandlung schon ihr 100-jähriges Stiftungsfest feiern könne. Auffällig ist immerhin, daß vorher niemand auf die ältere Literatur aufmerksam machte, die allerdings in modernen Lehrbüchern nirgends Platz gefunden hat. Es würde zu weit führen, wenn ich die gesamte Literatur (gegen 24 Nachweise, die mir fast sämtlich zugänglich waren) hier anführen wollte, da ja ohnehin nach den Verhandlungen in dem Verein für innere Medizin im Juli d. J. nach Blaschkos Ausspruch von der Atoxylbehandlung wohl nichts übrig bleiben wird als eine gelegentliche Anwendung in gewissen Fällen. Das Resultat aus der früheren Literatur, was jetzt unnötigerweise bestätigt wurde, ist dasselbe, nämlich daß Arsen kein Spezifikum gegen Syphilis und nur in solchen verzweifelten Fällen zu versuchen sei, bei denen Quecksilber und Jod im Stiche lassen, man müsse sich vor unvorsichtigem Vorgehen mit diesem Heroikum hüten, denn es könne sehr böse Vergiftungen zur Folge haben.

Ueber ein neues biologisch-therapeutisches Mittel, bei Syphilis der Menschen oder Affen ein Urteil zu gewinnen, scheint mir wegen der außergewöhnlichen Variationsbreite des Krankheitsbildes auch bei nicht-behandelten Fällen und bei der Unberechenbarkeit später auftretender Rezidive in der Zeit von einigen Jahren kaum möglich. Ich habe deswegen nach einigen Versuchen an Menschen und Tieren, die aber kein Interesse beanspruchen sollen, weil die Beobachtungszeit viel zu kurz war, ganz auf therapeutische Versuche verzichtet und bin nur auf Immunisierungsversuche eingegangen. Hier liegt wenigstens die Möglichkeit vor, mit einer an Sicherheit streifenden Wahrscheinlichkeit zu entscheiden, ob die Immunisierung gelungen oder mißlungen ist. Das Auftreten eines deutlichen Primäraffektes oder das Fehlen desselben bei Affen gibt einen objektiv bestimmbaren, annähernd absoluten Wert, mit dem man tabellenmäßig rechnen kann. Zur Kontrolle müssen immer noch die inneren Organe möglichst erst nach mehreren Monaten unter-

sucht werden, da es sehr wohl denkbar ist, daß der Primäraffekt sehr undeutlich blieb und trotzdem Allgemeininfektion eintrat.

Schon gleich im Anfang meiner Untersuchungen führten mich allgemeine Ueberlegungen zu diesen Immunisierungsversuchen. Es gibt in der Geschichte nur ein Beispiel von wesentlich, allgemein anerkannter Beeinflussung einer großen Volksseuche, d. i. die Vaccineimpfung, ein eminent immunisatorischer Vorgang. Bei der Syphilis liegen die Verhältnisse meiner Ansicht nach noch günstiger. Hier ist der Ort des Gifteintrittes, der Zeitpunkt und die Herkunft des Virus genau bestimmbar. Sollte man hier nicht im stande sein, die bekannte Quelle verstopfen zu können, aus der immer wieder die Ausbreitung der Seuche ihren Ausgangspunkt nimmt? Ich meine, wenn es gelingen sollte, durch bestimmte Einspritzungen, die an und für sich unschädlich sein müßten — Atoxyl kommt deswegen nicht in Betracht — die Prostitution vor Ansteckung zu schützen, so würde im Laufe einiger Jahre das Gebiet der Syphilis auf einen kleinen Kreis beschränkt sein.

Von solchen Gesichtspunkten ausgehend, habe ich mich ganz auf Immunisierungsversuche beschränkt und versucht, bei Pavianen, die, wie des öfteren betont wurde, außer den Anthropoiden wegen ihrer außergewöhnlich hohen Empfänglichkeit für Syphilis die einzig in Betracht kommenden Tiere sind, eine Methode ausfindig zu machen. Da ich, wie ich früher ausgeführt habe, überzeugt bin, daß Einspritzung virulenten Materials zur Infektion führen kann und andererseits nachgewiesenermaßen gegen Infektion nicht schützt (Finger, Kraus, Volk, Neisser, Siegel), kamen Untersuchungen mit diesen Produkten nicht in Betracht. Es blieb daher nur abgetötetes Material übrig. Solche Versuche sind schon früher veröffentlicht worden (Metschnikoff und Roux u. A.), waren aber an Anzahl zu gering, als daß aus ihnen bestimmte Schlüsse gefolgert werden konnten. Auch waren sie nicht in genügender Menge variiert worden. Schon von Anfang meiner Arbeiten mit Syphilis an habe ich Versuche mit dieser Methode vorgenommen, indem ich sie im Laufe der letzten 2 Jahre nach allen möglichen Richtungen, nach Art und Menge des Impfmateri als, Zahl und Zeit der Einspritzung u. s. w. variierte. Nach vielen mühseligen Versuchen, weil jede Versuchsreihe außergewöhnlich viel Zeit kostete, bin ich nun dahin gekommen, bei einer ganzen Reihe von Pavianen (die letzte Serie umfaßt 16 Affen) folgendes erreicht zu haben: Die Tiere wurden nach der Immunisierung 2—3mal mit virulentem Material kutan ohne Erfolg geimpft, während die Kontrolltiere erkrankten. Die Einspritzungen haben sich den Tieren gegenüber in keiner Weise nachteilig gezeigt. Infolge ganz besonders sorgfältiger Pflege gelingt es mir jetzt, eine der Hauptbedingungen solcher Versuche zu erfüllen: Die Tiere müssen sehr lange am Leben erhalten werden können und dürfen nicht schon nach einigen Monaten eingehen. Ich beabsichtige nun, diese Versuche im Laufe der nächsten Zeit bei einer noch größeren Anzahl von Tieren zu wiederholen, bei dieser Gelegenheit nochmals genau die Mengenverhältnisse und andere zahlenmäßige Bestimmungen festzusetzen. Erst wenn auch diese Resultate ebenso günstig erscheinen, wie die bisherigen, werde ich die Einzelheiten der Methode für reif zur Veröffentlichung und mich zu Versuchen an Menschen, in dem oben skizzierten Sinne vorzugehen, für berechtigt halten.

Hiermit sei der zweite Abschnitt meiner heutigen Arbeit abgeschlossen, die bei dem jetzigen Stand der Syphilisfrage nur als eine

kurz orientierende vorläufige Mitteilung gelten soll, da von einem Abschluß der Forschungen noch nicht gesprochen werden kann. Es beginnt jetzt erst allmählich ein fester Kern herauszukristallisieren aus dem Wirrwarr von tausendfachen Beobachtungen der letzten Jahrzehnte, die allmählich so zahlreich geworden sind, daß es schon außergewöhnlichen Zeitaufwandes bedarf, um die ganze Literatur zu übersehen.

Wir sahen die *Spir. pallida*, ebenso wie vor einigen Jahrzehnten den Lustgartenschen *Bacillus*, auf Grund autoritativer Einführung sich im Fluge die Anerkennung der wissenschaftlichen Welt erringen, was um so leichter war, als ihr einerseits der verführerische Reiz eines bequemen Nachweises zu Hilfe kam, andererseits ihre Anlehnung an allbekannte Parasitenformen — wie alles Plausible, leicht Faßliche — zur schnellen Anerkennung verlockte. Wir sahen, wie die Forschung sich übereilte, wie immer bei neuen seltsamen Erscheinungen, zumal wenn sie herrschende Ideen sogenannter Autoritäten in glänzender Weise zu bestätigen scheinen. Mit ungeduldiger Hast griff man gern nach jedem neuen Funde, um ihn zur Vervollständigung der „großen“ Entdeckung zu verwerten. Allein diese Hast war zugleich ein Zeichen von Mißtrauen in die verfochtene Lehre, gleich als könnte das Spiel jederzeit wieder verloren gehen. Dieselben Personen, die ehemals am eifrigsten auf den Lustgarten-Weigertschen *Bacillus* geschworen hatten, schwören jetzt auf die *Pallida*.

Die Widerlegung der falschen Theorie war in manchen Punkten leicht, soweit es sich um wirkliche, nach Giemsa färbbare Spirochäten handelte, in anderen bereitete sie wiederum größere, erst im Laufe der Zeit zu überwindende Schwierigkeiten, z. B. in dem Nachweis der eigentlichen Natur der Silberspiralen, vor allem als Gewebefasern, und bei deren Auffindung in nichtsyphilitischem Gewebe.

Schließlich gaben verhältnismäßig einfache Verhältnisse den Ausschlag gegen die ätiologische Bedeutung, besonders das Fehlen in syphilitischen Affenorganen.

Auf der anderen Seite steht der *Cytorrhycles* da als ein Gebilde, dessen Nachweis sehr schwierig ist und nur durch differenzierte Färbung gelingt, während die Spirochäte sich nach einfacher Ueberfärbung zeigt. Dazu kommt, daß er in seinen größeren nachzuweisenden Formen nur an bestimmten Stellen und zu bestimmten Zeiten zu finden ist. Schließlich, und das macht seiner Aufnahme die größten Schwierigkeiten, gehört er zu einer noch nicht anerkannten, ja heftig befehdeten Gruppe von Organismen, die als solche um ihre Anerkennung kämpfen. Nicht überraschend ist es daher, daß seine Bestätigung, noch dazu in Konkurrenz mit einem scheinbar gut legitimierten Nebenbuhler, vorläufig nicht aufkommen konnte. Die *Cytorrhycles* dürften erst dann zur Anerkennung gelangen, wenn die Wahrscheinlichkeitsgründe, die ich für sie anführe, mit größerer Unbefangenheit und etwas Wohlwollen nachgeprüft werden. Doch woher soll vorläufig die Unparteilichkeit kommen, nachdem die ganze Welt sich als Spirochätenanhänger zu erkennen gegeben hatte. Bis zur vollständigen Ergründung der Syphilisätiologie aber dürfte bei dieser „millionengestaltigen, Generationen durchschleichenden Krankheit“ (Proksch) wohl noch längere Zeit vergehen.

Schlusssätze.

- 1) Die Aera der Spirochätentheorie hat eine auffallend große Ähnlichkeit mit der Aera des Lustgarten-Bacillus.
- 2) Die Spirochäten sind keine Protozoen, sondern Bakterien.

3) Unter bestimmten Umständen können Gewebsdeformierungen eintreten, wobei die Gewebsfasern ein Aussehen wie Spirochäten annehmen, z. B. Keratitis bei Hornhautgeschwür nichtluetischen Ursprungs, Mazeration von Schweineföten, Hautnekrose bei Pocken, menschlicher, nichtluetischer Lungengangrän.

4) Es gibt syphilitische Föten mit ungeheuren Mengen von Gewebs-silberspiralen an allen Stellen des Gewebes, während bei Giemsa-Färbung im Ausstrich keine einzige Spirochäte vorhanden ist.

5) Die jetzige Definition der *Spirochaete pallida* (ausgezogene „mittlere Form“, „Depressionszustand“) gibt keine sicheren Unterscheidungsmerkmale von ubiquitären Saprophyten.

6) Der Nachweis von Giemsa-Spirochäten in syphilitischen Föten und Neugeborenen ist für die Aetiologie belanglos, da dieselben Objekte fast regelmäßig mit allen möglichen Bakterien durchsetzt sind.

7) Aetiologische Bedeutung kann nur einem Parasiten beigemessen werden, der auch in den Organen von erwachsenen Syphilitischen und vor allem von syphilitischen Affen regelmäßig gefunden wird. Hier fand sich die Spirochäte bisher nicht, sie hat daher auch mit der Erregung der Syphilis nichts zu tun.

8) Die Syphilis gehört ihrem Gesamtcharakter nach nicht zu den Spirochätosen, sondern zu den akuten Exanthemen. Es gehört daher mit großer Wahrscheinlichkeit der Erreger zu der Gruppe der Cytorrhysten.

9) Der Cytorrhystes stirbt außerhalb des lebenden Körpers unkonseruiert sehr bald ab, es ist daher stets wichtig, nur ganz frisches Material zu untersuchen.

10) Der Cytorrhystes luis ist nachweisbar in primären und sekundären Produkten der Syphilis.

11) Echte Kultivierung des Cytorrhystes auf totem Nährboden und im Kollodiumsäckchen ist bisher einwandfrei nicht gelungen.

12) Es gelang mir, bei Pavianen wie bei den Anthropoiden an jeder Stelle der Haut Primäraffekte, ferner sekundäres Exanthem und Lebergummata zu erzeugen.

13) Eine neue diagnostische oder therapeutische Methode hat die moderne Syphilisforschung nicht ergeben.

14) Es war mir möglich, mittels einer neuen Methode eine große Anzahl von Pavianen gegen Syphilisimpfung zu immunisieren.

Nachtrag.

Während der Drucklegung vorstehender Abhandlung fanden in Dresden die Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte und in Berlin der Internationale Kongreß für Hygiene und Demographie statt. Auf beiden Kongressen hatte ich Gelegenheit, einen Vortrag über das oben behandelte Thema zu halten, in Dresden mit gleichzeitiger Demonstration von etwa 60 Diapositiven sowie 10 mikroskopischen Präparaten. In diesen Vorträgen, die den Cytorrhysten luis, die Impfresultate bei Tieren sowie die Immunisierung behandelten, nahm ich auch Gelegenheit, folgende Reihe von Gründen anzuführen, die gegen die ätiologische Bedeutung der *Spir. pallida* sprechen: 1) Die Protozoennatur der Spirochäten, auf die großes Gewicht bei der Feststellung der Erregernatur der *Pallida* gelegt wird, ist nicht haltbar. 2) Die *Pallida* unterscheidet sich nicht von der saprophytischen *Refringens*. 3) Die Stellen, an denen man die *Pallida* nachweist, nämlich Hautprodukte und Organe von Föten und Neugeborenen, sind zur Unter-

suchung der Erregerfrage ganz ungeeignet, denn in den Leichen syphilitischer Neugeborener findet man immer alle möglichen saprophytischen Bakterien, in den Leichen der syphilitischen Föten in etwa 80 Proz. 4) Die Silberfärbung ist zum Nachweise von Spirochäten aus vielen Gründen zu verwerfen. 5) Die mit Farbstoffen als Parasiten nachweisbaren Pallidae fehlen sehr häufig in syphilitischen Hautprodukten und in den Organen von syphilitischen Kinderleichen. 6) Noch ungünstiger für die Annahme der Erregernatur ist das Vorkommen der Pallidae an vielen nichtsyphilitischen Stellen. 7) Die Antigenreaktion, die selbst als spezifisch nicht erwiesen ist, darf zur Stütze der Pallida nicht herangezogen werden. 8) Die Schädigung, ja Auflösung der Pallida in Glycerin spricht gegen ihre Erregernatur, da Glycerin das beste Konservierungsmittel des Syphilisvirus ist. 9) Das Syphilisvirus ist filtrierbar, die Pallida nach Siebert nicht. 10) Das Syphilisvirus erhält sich ohne Konservierungsmittel höchstens 6—8 Stunden virulent, die Pallida aber kann nach Hoffmann-Beer unter dem Deckglase monatelang lebend erhalten werden und erscheint nicht selten in den mehrere Tage aufgehobenen faulenden Kinderleichen in ungeheuren Mengen lebend.

Die angeführten Argumente schienen den sowohl in Dresden wie in Berlin sehr zahlreichen Zuhörern so neu und unerwartet gewesen zu sein, daß weder in Dresden noch in Berlin wesentliche Angriffe gegen dieselben in der Diskussion unternommen wurden.

Mühlens, der Cytorrhcytes-Formen in normalem Blute gesehen haben wollte, wurde von mir darauf hingewiesen, daß er diese Behauptung durch Aufstellen von mikroskopischen Präparaten hätte beweisen müssen, ebenso wie ich meine Behauptung, daß sogenannte „Silberspirochäten“ auch in nicht syphilitischen Organen vorkämen, durch Präparate ad oculos demonstriert habe.

Auch die Ausstellung des internationalen Kongresses für Hygiene und Demographie war in der Spirochätenfrage sehr lehrreich. An vielen Stellen waren Spirochätenpräparate ausgestellt, mit ganz geringen Ausnahmen nur die sogenannten Silberspirochäten.

Hier war nun die beste Gelegenheit gegeben, sich durch eingehendes vergleichendes Studium zu überzeugen, daß die sogenannten Silberspirochäten je nach dem ausgestellten Organ, in dem sie gezeigt wurden, entsprechend der Spezifität der Organfibrillen, eine andere Form annehmen; so sehen sie z. B. in einer Arterienwand ganz anders aus als in der Leber eines Föten oder in dem Primäraffekt eines Affen oder in der Kaninchencornea u. s. w., ferner haben sehr viele Forscher die Gelegenheit benutzt, sich davon zu überzeugen, daß die von mir ausgestellten spiraligen Silberfibrillen aus mazeriertem Schweinefötus oder Lungengangrän oder Kaninchencornea sich mit den einzelnen als Syphiliserreger ausgestellten „Silberspirochäten“ vollständig deckten. Ja die Ähnlichkeit erschien einigen so groß, daß sie die von mir ausgestellten „Silberspirochäten“ nunmehr für wirkliche Parasiten erklärten, um auf diese Weise wenigstens die Parasitennatur der angeblichen Syphiliserreger in den Silberpräparaten syphilitischer Organe zu retten.

Literatur.

- Alvarez und Tavel, Arch. de physiol. norm. et pathol. 1885.
 Arning, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 25.
 Arning und Klein, Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 37.
 Auzias-Turenne, La syphilisation. Paris 1878.

- Bab, Deutsche med. Wochenschr. 1906. No. 48.
 Babes, Zeitschr. f. Hygiene. 1907. — Kollé-Wassermanns Handb. Ergänzungsbd.
 Bäumler, Dtsch. Arch. f. klin. Med. 1872. — Ziemssens Handb.
 Benda, Berl. med. Ges. 1907. März. — Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 15 u. 16.
 Bertarelli und Volpino, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906.
 Birch-Hirschfeld, Centralbl. d. med. Wissensch. 1882.
 Blanchard, Bull. acad. de méd. 1907.
 Blaschko, Berl. med. Ges. 1904. Dez.
 Boeck, Die Syphilisation bei Kindern. 1856.
 Böhm-v. Davidoff, Histol. u. mikrosk. Technik. 1903.
 Bonhoff, Naturhist. Verein Marburg. 1905.
 Borrel, Compt. rend. Soc. Biol. 1905. — Ann. Inst. Pasteur. 1903.
 Brinkerhoff und Tyzzer, Journ. of med. Research. 1904.
 Carini, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906.
 Castellani, Journ. of trop. med. 1905.
 Dehmel, Bakteriöl. des Leichenblutes. [Inaug.-Diss.] 1906.
 Detre, Wien. klin. Wochenschr. 1906.
 Dohi, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIV. 1907. Heft 3.
 Doutrelept, Deutsche med. Wochenschr. 1885. — Vierteljahrschr. f. Dermat. u. Syph. 1887.
 Dreyer, Med. Klinik. 1906. — Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 35.
 Ehrenberg, System der Bakterien. 1836.
 Eitner, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Escherich, Aerztl. Intellig. München 1884.
 Finger, Dermatologenkongr. Bern. 1906.
 Finger und Landsteiner, Sitzungsber. der k. k. Akad. Wien. 1906.
 Flügge, Vossische Ztg. 1906.
 Foà, Arch. de Parasitologie. 1903.
 Forest, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906.
 Fornet und Schereschewsky, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Fränkel, C., Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Fränkel, E., Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Friedeberg, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Friedenthal, Berl. klin. Wochenschr. 1906 u. 1907.
 Frosch (Pielicke), Disk. med. Ges. 1905.
 Ganzer, Berl. tierärztl. Wochenschr. 1905.
 Gasser, Ueber Serumtherapie bei Syphilis. [Inaug.-Diss.] Straßburg 1877.
 Gerhardt, Arch. f. klin. Med. 1874.
 Giaxa und Lustig, Wien. med. Wochenschr. 1886.
 Gruber, Wien. med. Wochenschr. 1887.
 Grünbaum, Pathol. soc. of London. — Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 31.
 Güntz, Zeitschr. f. Chir. u. Geburtshilfe. N. F. IV. 1865. — Das syphilitische Fieber. 1873.
 Haensell, Gräfes Arch. 1881.
 Halberstädter, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
 Hallopeau, Revue scient. 1907.
 Heller und Rabinowitsch, Med. Klin. 1906.
 Heller und Tomarkin, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
 Herxheimer, Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Heubner, Die Syphilis des Gehirns etc. (Ziemssens Handb. II.)
 v. Hippel, Versamml. dtsch. Ophthalmologen. Heidelberg 1906.
 Horn, Horns Archiv. I. 1807.
 Jadassohn, Dermatologenkongreß Bern. 1906.
 Jaffé, Arch. f. Protistenk. 1907.
 Jancke, Münch. med. Wochenschr. 1905. — Med. Klin. 1907. — Berl. med. Ges. in Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 12. — Therapeut. Monatsh. 1907. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. 1907.
 Joest, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. I. 1906.
 Jores, Zieglers Beitr. 1907.
 Jürgensen, Nothnagels Handb. Masern. 1895. — Ibid. Scharlach. 1896.
 Kiolemenoglou und v. Cube, Münch. med. Wochenschr. 1905.
 Klingmüller und Baermann, Deutsche med. Wochenschr. 1904.
 Kopke, zit. aus Ehrlich in Intern. Wochenschr. f. Wissensch., Kunst u. Technik. 1907.
 Kraus, Handb. d. Hautkrankh. von Mrazek. 1907. — Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Kraus und Volk, Dermatologenkongreß Bern. 1906.
 Krienitz, Deutsche med. Wochenschr. 1906.

- Krüdener, Petersb. med. Wochenschr. 1895.
 Kruse-Flügge, Handb. d. Mikroorganismen. I.
 Landsteiner, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Lang, Wien. med. Wochenschr. 1900.
 Langgaard, Therap. Monatsb. 1907.
 Levaditi und Manouélian, Ann. Inst. Pasteur. 1907.
 Léon, Jetziger Stand der Syphilisbacillenfrage. [Inaug.-Diss.] Berlin 1901.
 Lesser, Lehrb. d. Haut- u. Geschlechtskrankh. 1887. — Vierteljahrsschr. f. Dermat. u. Syphilis. 1882. — Ber. des Vereins f. inn. Med. 1907. — Internat. Wochenschr. 1907.
 Lode, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907.
 Lustgarten, Wien. med. Jahrb. 1885.
 Mayer, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
 Mallory, Journ. of med. Research. 1904.
 Mandelbaum, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Marie und Levaditi, Ann. Inst. Pasteur. 1907.
 Martins, Pathogenese innerer Krankheiten. 1899.
 Mauriac, Schmidts Jahrb. 1874. No. 9.
 Metschnikoff und Roux, Ann. Inst. Pasteur. 1904.
 Michaelis, Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 35.
 Mrázek, Arch. f. Derm. u. Syph. 1887.
 Mühlens, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1907. — Zeitschr. f. Hygiene. 1907.
 Mühlens und Hartmann, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906. — Zeitschr. f. Hygiene. 1906.
 Müller, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Mulzer, Berl. klin. Wochenschr. 1905.
 Neisser, Ziemssens Handb. 1883. — Deutsche med. Wochenschr. 1906. — Zeitschr. f. Bekämpf. d. Geschlechtskrankh. 1906. — Die exp. Syphilisforschung. 1906.
 Negri, Rend. Acad. Linc. 1907.
 Nobl, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Nourney, Lehre von der Impfung. Straßburg 1881.
 Novy und Mc Neal, Journ. of infect. Diseases. Vol. II. 1905.
 Ostertag, Zeitschr. f. Infektionskrankh. d. Haustiere. 1907.
 Pick, Arch. f. Dermatol. u. Syphilis. Bd. LXXXV.
 Plaut, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 30.
 Pollnow, Der Hydrops sanguinolentus fatus. Berlin 1874.
 Proksch, Literatur über die vener. Krankheiten, 1889—1900. — Dermatol. Centralbl. 1901. — Vierteljahrsschr. f. Dermat. u. Syph. 1878. — Beiträge zur Geschichte der Syphilis. 1904.
 Pröschner und White, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 v. Prowazek, Arb. a. d. kais. Gesundh.-A. 1907.
 Ranzi, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Ranvier, Histologie. 1875.
 Rawitz, Lehrb. d. mikrosk. Technik. 1907.
 Reiner, Horns Arch. I. 1812.
 Ricord, Malad. vénér. 1838.
 Rissio und Cipollina, Arch. f. Derm. u. Syph. 1906.
 Robertson und Young, Lancet. 1907.
 Rosenbach, Problem der Syphilis. 1906. — Berl. klin. Wochenschr. 1906. No. 35 u. 36.
 Ruge, Zeitschr. f. Geburtsh. u. Gynäk. 1877.
 de Ruyter, Einige Fälle von Syph. congen. etc. [Inaug.-Diss.] Berlin 1885.
 Sakurane, Vortrag in der med. Ges. zu Osaka, 20. Mai 1907, und Nachtrag.
 Saling, Sitzungsber. naturf. Freunde. 1906. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI, XLII, XLIII, XLIV. 1906 u. 1907. — Wien. klin. Rundsch. 1906 u. 1907. — Sitzungsberichte Berl. med. Ges. in Berl. klin. Wochenschr. 1907. No. 9, 10, 12. — Fortschr. d. Med. 1907. No. 19.
 Salmon, Soc. de Biol. 1907.
 Schaudinn, Verhandl. d. internat. med. Kongr. Lissabon. 1906. — Arb. a. d. kais. Gesundh.-A. 1904 u. 1907.
 Schmorl, Deutsche med. Wochenschr. 1907.
 Scholtz, Deutsche med. Wochenschr. 1905.
 Schuberg, Verhandl. naturh.-med. Vereins Heidelberg. 1907.
 Schubert, Ueber syphilitische Augenerkrankung. 1881.
 Schucht, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 3.
 Schüffner, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Schulze, W., Berl. klin. Wochenschr. 1906. — Zieglers Beitr. 1905. — Verhandl. d. zool. Ges. 1906. — Med. Klin. 1905, 1907. — Monatsbl. f. Augenheilk. 1907.

- Schuster, Berl. klin. Wochenschr. 1907.
 Sergeant, Emile, Syphilis et Tuberculose. 1907.
 Sergeant, Edm. und Etienne, Ann. Inst. Pasteur. 1907.
 Siegel, Abhandl. d. kgl. preuß. Akad. d. Wiss. 1905. — Münch. med. Wochenschr. 1905, 1906. — Sitzungsber. d. Ges. naturf. Freunde. 1906. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906. 1907.
 Simmonds, Münch. med. Wochenschr. 1906. No. 29.
 Simonelli und Bandi, Arch. f. Derm. u. Syph. 1906.
 Stern, Zeitschr. f. Dermat. 1907. No. 14.
 Stargard, Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 21.
 Sternberg, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 22.
 Swellengrebel, Ann. Inst. Pasteur. 1907. — Compt. rend. Soc. Biol. 1907.
 Theiler, Fortschr. d. Veterinär. 1906.
 Thesing, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906. — Sitzungsber. naturf. Freunde. 1905.
 Tepel, Beitr. z. path. Anat. d. cong. Syph. Berlin 1874.
 Tiedemann und Nambu, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Tomaszewski, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Trommsdorff, Arch. f. Hygiene. 1906.
 Tunnicliff, Journ. of infect. Diseases. 1906.
 Uhlenhuth, Berl. med. Ges. u. Verein f. inn. Med. 1907.
 Watermann, Berl. klin. Wochenschr. 1907.
 Weil, Centralbl. f. med. Wissensch. 1874.
 Weil, Wien. klin. Wochenschr. 1907 u. Deutsch. med. Wochenschr. 1907. No. 43.
 Wenyon, Journ. of Hyg. 1906.
 Wersilowa, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. 1906.
 Wewer, Vierteljahrsschr. f. Derm. u. Syph. 1877.
 Weygandt, Münch. med. Wochenschr. 1907.
 Wiesner und Rach, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
 Wolff, Arch. f. pathol. Anat. Bd. CXVII.
 Woodcock, Quart. Journ. of micr. science. 1906. — Zool. Report. 1907.
 Zabel, Med. Klin. 1907.
 Zabolotny, Bull. Acad. Pétersbourg. 1904. — Dermatologenkongreß Bern. 1906.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. „Silberspirochäte“ aus der Leber eines syphilitischen Fötus. Photogramm.
 Fig. 2. „Silberspirochäte“ aus der nichtsyphilitischen Kaninchencornea. Photogramm.

Die Photogramme 1 und 2 sind bei gleicher Vergrößerung, 900 \times , nebeneinander gestellt, um zu beweisen, daß in der nichtsyphilitischen Kaninchencornea dieselben gleichgroßen Fibrillen angetroffen werden wie in syphilitischen Organen.

- Fig. 3. „Silberspirochäten“ in nekrotischer Partie einer Pockenpustel. Zeichnung Sakuranes, photographisch kopiert. Vergr. 500.

- Fig. 4. „Silberspirochäten“, wahrscheinlich elastische Fasern, aus der Wand eines an einen Kolliquationsherd grenzenden, zum Teil in Auflösung begriffenen Gefäßes aus der gangränösen Lunge eines nichtsyphilitischen Menschen. Aus einem von Herrn Dr. Küster-Freiburg überlassenen Präparate. Photogramm. Vergr. 750.

- Fig. 5. Cytorrhcytes luis, verschiedene Entwicklungsformen. Zeichnung.

- Fig. 6. Cytorrhcytes luis im Schnitt von Primäraffekt. Zeichnung.

Die Größe der Parasiten ergibt sich aus dem Verhältnis zu den Bindegewebskernen.

- Fig. 7 u. 8. Gefäß mit verdickter Wand und fast geschlossenem Lumen ausluetischer Affenleber. Photogramm. Vergr. 150.

- Fig. 9. Beginnende Gummibildung in einerluetischen Affenleber. Photogramm. Vergr. 150.

Die Fig. 7—9 entsprechen dem in Textfigur 3 gezeichneten Leberschnitt.

Fig. 10—14 entsprechen den einzelnen mit den gleichen Buchstaben bezeichneten Partien der Textfigur 4.

Sie zeigen die landkartenartige Umgrenzungszone des Gummi, die Umwachsung noch fast normal erhaltenen Lebergewebes mitten im Gummi, die Neubildung von Kapillaren und Gallenkanälchen in der Mitte des Gummi, die alveoläre Anordnung der meist spindelförmigen Zellen u. a.

Nachdruck verboten.

Ueber Toxine und Antitoxine des Cholera-vibrio. Experimentelle Grundlage einer antitoxischen Cholera-therapie.

[Aus dem staatlich-serotherapeutischen Institute in Wien
(Vorstand: Prof. R. Paltauf).]

Von Prof. **R. Kraus** und k. u. k. Reg.-Arzt Dr. **V. K. Russ.**

Mit 2 Kurven.

(Schluß.)

Unsere Untersuchungen, welche durch Prochniks Bedenken angeregt wurden, haben Tatsachen ermittelt, welche uns veranlassen, diesen Vibrionen eine gesonderte Stellung einzuräumen. Es ergab sich, daß diese Vibrionen morphologisch, kulturell und auch biologisch alle Charaktere des Cholera-vibrio aufweisen, wie es F. Gotschlich, Kolle und Meinicke angegeben hatten, daß ihnen aber noch Eigenschaften zukommen, welche der Cholera-vibrio Koch nicht besitzt. Alle 6 Stämme produzieren Hämotoxine und akut wirkende Toxine. Außer diesen Stämmen gehören nach unseren Untersuchungen in dieselbe Gruppe der Stamm „Alioglu“ (Dr. Coendrinopoulo),

Vibrionen kulturell (biologisch mit *V. cholerae* identisch) mit
Hämotoxin- und Toxin-(akut)Produktion.
(Toxinprüfung intravenös an Kaninchen.)

Herkunft	Name	Agglutination mit Cholera-serum	Hämotoxin in Bouillon	Verhalten auf der Ziegenblut-Agarplatte	Toxinprüfung		
					Alter der Kultur	Menge	Resultat
Dr. Prochnik	El Tor I	1: 10 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	4 Tage	1 ccm	+ in 2 Std.
	" " II	1: 10 000	do.	do.	4 "	1 "	+ in 1 Std.
	" " III	1: 10 000	do.	do.	5 "	1 "	+ in 4 Std.
	" " IV	1: 12 000	do.	do.	6 "	2 "	+ in 5 Min.
	" " V	1: 12 000	do.	do.	3 "	2 "	+ in 3 Min.
	" " VI	1: 10 000	do.	do.	4 "	1 "	+ in 30 Min.
Berlin (Kolle und Meinicke)	El Tor I	1: 10 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	6 Tage	2 ccm	+ in 1 Std.
	" " II	1: 10 000	do.	do.	6 "	2 "	+ in 1 Std.
	" " III	1: 10 000	do.	do.	4 "	2 "	+ in 1 Std.
	" " IV	1: 12 000	do.	do.	3 "	1 "	+ in 30 Min.
	" " V	1: 12 000	do.	do.	3 "	1 "	+ in 5 Min.
	" " VI	1: 10 000	do.	do.	6 "	2 "	+ in 10 Min.
Paris	Chol. Bombay	1: 2 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	10 Tage	2 ccm	+ in 3 Std.
Halle	Chol. Berlin	1: 20 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	10 Tage	2 ccm	+ in 2 Std.
Coendrinopoulo	St. Alioglu	1: 2 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	4 Tage	5 ccm	+ in 5 Min.
Berlin (Mühlens u. Ravens)	Baku vir	1: 3 000	Hämotoxin	starke Aufhellung	5 Tage	2 ccm	+ in 12 Std.
	70 v	1: 1 500	do.	do.	5 "	2 "	+ in 8 Std.
	74 v	1: 3 000	do.	do.	4 "	2 "	+ in 1 Std.
	302	1: 3 000	do.	do.	5 "	2 "	+ in 12 Std.
	322	1: 3 000	do.	do.	4 "	2 "	+ nach 5 Min.

Cholera „Bombay“ (aus Paris), Cholera „Berlin“ (aus Halle) und die Cholera Stämme, die von Mühlens und Ravens (29) aus Berlin freudlichst überlassen wurden. Diese letzteren Kulturen sollen aus Cholerafällen in Rußland gezüchtet worden sein. Von den Cholera vibrionen, welche wir direkt aus Rußland erhielten, hat kein einziger, wie noch später gezeigt wird, hämolytische Eigenschaften gezeigt.

Ueber das Verhalten der El Tor-Vibrionen zu agglutinierendem Choleraserum und des Cholera vibrio zu agglutinierendem Vibrionenserum.

Als Ergänzung der Versuche Gotschlichs haben wir die El Tor-Stämme mit einem hochwertigen Choleraserum agglutiniert und haben außerdem Cholera Stämme und diese Stämme mit Seris, die mit den El Tor-Stämmen gewonnen waren, zur Agglutination herangezogen.

Gotschlich hat nämlich, wie aus seinem Rapport hervorgeht, die Stämme mit Choleraserum agglutiniert, dessen höchster Wert 2000-fach war. Es wäre nach den Erfahrungen der jüngsten Zeit immerhin möglich gewesen, daß diese Stämme, ohne Cholera Stämme zu sein, vom Choleraserum mitagglutiniert werden, so wie beispielsweise Typhusbacillen vom Paratyphusserum etc. Die in dieser Richtung ausgeführten Untersuchungen, welche in der vorangehenden Tabelle niedergelegt sind, lehren, daß auch hochwertiges Choleraserum die El Tor-Stämme agglutiniert sowie Cholera Stämme. Sera, gewonnen mit El Tor-Stämmen (I, III und V), agglutinieren auch Cholera Stämme ebenso hoch wie El Tor-Stämme.

Die Arbeiten von C. Praussnitz (30), namentlich aber die ausgedehnten Untersuchungen von E. Gotschlich und Kolle (31) lehren, daß ein hochwertiges Choleraserum ein sicheres Reagens für Cholera Stämme ist und daß in hohen Verdünnungen nur Cholera Stämme und niemals andersartige Vibrionen agglutiniert werden. Kolle und Gotschlich haben weiterhin Tatsachen festgestellt, daß ein mit choleraähnlichen Vibrionen gewonnenes Serum Cholera vibrionen nicht stärker zu agglutinieren vermag wie normales Serum.

Interessant ist die Beobachtung, daß, trotzdem ein hochwertiges agglutinierendes Choleraserum alle Stämme in Verdünnungen 1 : 10000 agglutinierte, doch mit einzelnen Seris (gewonnen mit El Tor-Vibrionen III, V) Unterschiede auftraten. So agglutinierte Serum, gewonnen mit Stamm III, einzelne Stämme Tor und auch Cholera Stämme bis 1 : 1000, andere El Tor Stämme nur bis 1 : 500 und 200, oder Serum, gewonnen mit Stamm V, agglutinierte den El Tor Stamm in 200-facher Verdünnung sowie den Cholera Stamm 102, dagegen agglutinierte es den Stamm El Tor I, IV und VI nur bis zur 100-fachen Verdünnung. Die Stämme I, IV und VI, welche Pilgern eines Schiffes (Bassorah) entstammen, zeigen bei Verwendung der agglutinierenden Vibrionensera ein fast gleiches Verhalten, indem sie niedriger agglutinieren als die Stämme II, III und V und alle Cholera Stämme. Daß selbst diese Differenzen nicht im stande sind, die zur Zeit anerkannte Spezifität des agglutinierenden Choleraserums zu erschüttern, lehren Versuche, die in einer späteren Arbeit mitgeteilt wurden (Kraus und Prantschoff), wonach kein einziges dieser Sera, welches mit diesen 6 Stämmen gewonnen wurde, choleraähnliche Vibrionen höher agglutiniert hatte als normales Serum. Auch das Serum des Vibrio Nasik, welches diesen Stamm in 10000-fachen Verdünnungen agglutiniert, hat die El Tor-Stämme nicht einmal in 100-facher Verdünnung agglutiniert. Umgekehrt agglutiniert Serum dieser El Tor-Stämme den Vibrio Nasik nicht höher als normales Serum.

Ueber das hämotoxische Vermögen der El Tor-Vibrionen.

Einer von uns (Kraus) hat nachgewiesen, daß Cholera-vibrionen zum Unterschied von choleraähnlichen Vibrionen kein lösliches Hämotoxin zu produzieren im stande sind. Während fast alle choleraähnlichen Vibrionen in alkalischer Bouillon lösliche Hämotoxine produziert haben, gelang es niemals bei Cholera-vibrionen, die mittels Agglutination als typische Stämme bestimmt wurden, ein lösliches Hämotoxin nachzuweisen. Auch spätere Untersuchungen, die Pribram im Institute angestellt hatte, sind zu demselben Resultate gelangt. Zu ganz gleichen Resultaten gelangte auch Meinicke, der unter Kolles Leitung die von uns ermittelte Tatsache einer Nachprüfung unterzogen hatte. Es war daher höchst überraschend, als wir bei der Untersuchung verschiedenaltiger Bouillonkulturen der El Tor-Stämme Hämotoxine nachweisen konnten. Bereits in 2 Tage alten Bouillonkulturen, die bei 37° gehalten, wurden Hämotoxine gefunden, indem 0,01 ccm dieser Kulturen bereits nach 1 Stunde 5 ccm einer defibrinierten 5-proz. Kaninchenblutaufschwemmung zu lösen vermochten (nach Zusatz von 0,005 ccm trat Hämolyse erst nach 16 Stunden auf). Ebenso wie die Bouillonkultur, vermochte auch das durch Reichel-Filter gewonnene Filtrat Blutkörperchen aufzulösen. Besondere Unterschiede in der Intensität der produzierten Hämotoxine konnten bei den verschiedenen Stämmen nicht wahrgenommen werden. Nachdem es Kolle und Meinicke (l. c.) nicht gelingen konnte, wie sie in dem Bericht an den Präsidenten des Sanitätsrates in Aegypten mitteilen, Hämotoxine dieser Stämme nachzuweisen, haben wir diese Untersuchungen mit den von Herrn Dr. Meinicke uns freundlichst überlassenen Stämmen wiederholt und bekamen dieselben Resultate wie mit den Stämmen aus El Tor, die uns Herr Dr. Prochnik überbracht hatte. Wodurch die negativen Resultate von Kolle und Meinicke zu erklären wären, vermögen wir nicht zu sagen. Sichergestellt ist es durch unsere Untersuchungen, daß diese Stämme zum Unterschied von allen bisher untersuchten Cholera-stämmen ebenso Hämotoxine produzieren wie andere choleraähnliche Vibrionen.

Trotz zahlreicher Untersuchungen an vielen Cholera-stämmen, welche immer wieder die einmal festgestellte Tatsache bestätigt haben, daß Hämotoxine in verschiedenaltigen Bouillonkulturen des Cholera-vibrio nicht nachweisbar sind, unternahmen wir es noch einmal, Cholera-stämme daraufhin zu untersuchen. Wir wählten zu diesem Zwecke frische Cholera-stämme¹⁾, die aus Cholera-fällen in Deutschland und Rußland im letzten Jahre gezüchtet wurden. Von diesen Cholera-stämmen hat kein einziger Stamm (23 Stämme) sich als hämotoxisch erwiesen. In der früher bereits angeführten Arbeit haben wir außer dem Fehlen der Hämotoxine bei Cholera und dem Vorhandensein derselben in Bouillonkulturen von andersartigen Vibrionen noch Agarplatten zur Differentialdiagnose herangezogen. Statt Kaninchenblut wird jetzt nur Ziegen- und Hammelblut (Kraus und Prantschhoff) benützt. Zum Unterschied von Cholera-stämmen, die selbst nach 48 Stunden um die Kolonien keine Aufhellungszone aufwiesen, waren um die Kolonien

1) Diese Cholera-stämme wurden uns freundlichst von Herrn Prof. Pfeiffer in Königsberg (5 Stämme) und von Herrn Dr. Wladimiroff (7 Stämme) in Petersburg überlassen. Auch die aus der jüngsten Epidemie in Rußland (1907) uns freundlichst von Herrn Prof. Zabolotny und Herrn Prof. Wyssokowitsch (11 Stämme) zugesandten Stämme wirken nicht hämotoxisch.

der 6 El Tor-Vibrionen bereits nach 24 Stunden helle Höfe deutlich ausgesprochen. Aus all diesen Versuchen ergibt sich, daß die 6 El Tor-Stämme eine Eigenschaft besitzen, nämlich die, Hämotoxin zu produzieren, welche bisher bei Cholerastämmen, die aus typischen Cholerafällen gezüchtet wurden, niemals gefunden wurde. Die zahlreichen schon früher mitgeteilten über die hämotoxinbildende Eigenschaft gewisser Vibrionen, sowie auch die mit frischen Choleravibrionen jetzt ausgeführten Versuche berechtigen uns, den vertretenen Standpunkt in der Hämotoxinproduktion der 6 El Tor-Vibrionen eine prinzipielle Verschiedenheit gegenüber dem Choleravibrio zu sehen, aufrecht zu erhalten. Namentlich glauben wir, durch die Versuche mit frischen Choleravibrionen weitere Beweise gegen die jüngst erschienenen gegensätzlichen Arbeiten von Mühlens und Ravens, Neufeld und Haendel (32) erbracht zu haben.

Neben den Hämotoxinen lassen sich, wie erwähnt, in Bouillonkulturen aller 6 Stämme und ebenso auch in den anderen dieser Gruppe zugehörigen Vibrionenstämmen Gifte nachweisen, welchen die Charaktere der Toxine, wie aus den folgenden Darstellungen hervorgeht, zuzusprechen sein dürften. Diese Gifte wurden in allen Kulturen gefunden, doch sind nicht alle Stämme gleichmäßig toxinproduzierend; am stärksten bildeten die Stämme IV und V, welche noch in Mengen von 0,25—0,5 ccm Tiere innerhalb ganz kurzer Zeit (15 Minuten bis 1 Stunde) töteten, die spezifischen Gifte.

Darstellung der Toxine.

Die Gifte lassen sich in Fleischbouillon gewinnen. Durch Extraktion mit destilliertem Wasser kann man aus Agarkulturen ebenso wirksame Toxine gewinnen wie aus Bouillonkulturen. Diese Toxine sind ebenso durch Antitoxine neutralisierbar. Zu ganz gleichen Resultaten in Bezug auf Hämotoxine gelangt in jüngster Zeit die unter Morgenroths Leitung ausgeführte Arbeit von Arinkin (Biochem. Zeitschr. 1907). Das aus dem Leib des *Vibrio Nasik* extrahierte Hämotoxin ist identisch mit dem in Bouillonkulturen nachgewiesenen. Die Bouillon ist aus fettfreiem Rindfleisch hergestellt und enthält $1\frac{1}{2}$ Proz. Pepton Witte und $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz. Das Fleisch bleibt 24 Stunden bei Zimmertemperatur, mit Wasser versetzt, stehen. Danach wird es kurz über der Flamme gekocht, fettfrei filtriert und mit Pepton und Kochsalz versetzt. Nach abermaligem Kochen im Dampftopf (2—3 Stunden) wird die Brühe neutralisiert (20-proz. Natronlauge) und mit Normalsodalösung alkalisiert. Zur Impfung wird gewöhnlich nur frische 24-stündige Agarkultur benutzt und 1 Oese davon genommen. Die Kulturen werden bei 37° auf schiefem, alkalischem Agar gehalten und jede Woche überimpft. Die toxische Eigenschaft dieser Kulturen ändert sich seit 2 Jahren nicht. Auch die Stämme, die uns aus dem Berliner Institut für Infektionskrankheiten freundlichst überlassen wurden, sind toxischen. Es konnten die Gifte in Lackmusneutraler, in einer Bouillon, die vom Lackmusneutralpunkt 2,4 ccm 5-proz. NaOH pro Liter Zusatz hatte und in einer die vom Lackmusneutralpunkt mit 10 ccm Normalsodalösung pro Liter alkalisiert war, nachgewiesen werden (s. Tab.). In diesen verschiedenen alkalisierten Nährmedien ließen sich die Gifte konstant nachweisen. Bereits in 3 Tage alten Kulturen, die bei 37° gehalten wurden, waren Gifte vorhanden. Die Stärke der Gifte ist variierend. Bei vergleichenden Untersuchungen der Gifte aus lackmusneutraler und einer, die mit 2,4 ccm 5-proz. NaOH alkalisiert war, ließen sich gleich starke Gifte

nachweisen. Die Giftigkeit beträgt gewöhnlich 0,5 ccm, seltener 0,1 ccm. Diese Menge tötet in 5—20 Minuten Kaninchen vom Gewichte 600—800 g bei intravenöser Injektion. Die Wirkung niederer Dosen, 0,1—0,25 ccm, äußert sich in einem später auftretenden Tod (nach einigen Stunden). Die Wirksamkeit des Giftes beurteilen wir danach, ob es noch im stande ist, Kaninchen innerhalb 1 Stunde zu töten.

Einfluß der Alkaleszenz der Bouillon auf die Toxizität.
(Geprüft intravenös an Kaninchen.)

Art der Bouillon	Stamm	Alter der Kultur	Injektionsmenge	Resultat
Phenolphthaleinneutrale Bouillon + 2,4 ccm 5-proz. NaOH	El Tor V	3 Tage	1,0 ccm	† in 5 Minuten
			0,5 „	† in 5 „
			0,25 „	† in einigen Stunden
Lackmusneutrale Bouillon	El Tor V	3 Tage	1,0 ccm	† in 5 Minuten
			0,5 „	† in 40 „
Diphtheriebouillon	El Tor V	6 Tage	1,0 ccm	† in 3 Minuten
	„ „ I	4 „	1,0 „	† in 2 Stunden
	„ „ II	4 „	1,0 „	† in 1 Stunde
	„ „ VI	4 „	1,0 „	† in 1 „
	„ „ V	8 „	0,5 „	† in 3 Stunden
	„ „ V	6 „	0,1 „	lebt
			1,0 „	† in 5 Minuten
			0,5 „	† in 15 „
			0,1 „	† in 3 Stunden

Änderung der Alkaleszenz der Kultur nach verschiedener Zeit.

Eine Serie von Kölbchen mit Diphtheriebouillon (200 ccm) wird mit Stamm El Tor V beimpft und nach verschiedenen Zeiten je ein Kölbchen auf den Toxingehalt und die Alkaleszenz geprüft (die unten angegebenen Zahlen gelten für 10 ccm Kultur und die Phenolphthaleinreaktion).

Alter der Kulturen	Alkaleszenzgrad in $\frac{1}{10}$ ccm Normal-HCl vom Neutralpunkt für Phenolphthalein	Injizierte Menge intravenöse Kaninchen	Resultat
2 Tage	0,15 ccm Normallauge	2,0 ccm	† nach 6 Minuten
		1,0 „	† nach 20 „
		0,5 „	† nach 2 Stunden
4 „	0,2 „ N-HCl	1,0 „	† nach 10 Minuten
		0,5 „	† nach 12 „
		0,1 „	† nach 18 Stunden
6 „	0,45 „ N-HCl	1,0 „	† in 5 Minuten
		0,5 „	† in 15 „
		0,1 „	† nach 3 Stunden
8 „	0,7 „ N-HCl	0,5 „	† nach 3 Stunden
		0,1 „	lebt
10 „	1,1 „ N-HCl	0,5 „	† nach 18 Stunden
		0,1 „	lebt
13 „	2,1 „ N-HCl	1,0 „	lebt
		0,5 „	„

Die Prüfung der Gifte und Eigenschaften derselben.

Die Prüfung der Gifte erfolgt zunächst so, daß die Kulturflüssigkeit ohne Filtration intravenös Kaninchen injiziert wird, dann erst, wenn wir uns von der Giftigkeit überzeugt haben, gehen wir an die Filtration. Diese Vorprüfung nehmen wir deswegen vor, weil der

Zeitpunkt, in welchem Gifte vorhanden sein sollen, von vornherein nicht sicher festzustellen ist. Die Gifte lassen sich bereits nach 3 Tagen nachweisen, können aber auch erst später auftreten. Impft man beispielsweise 3 Bouillonkölbchen (200 g) mit demselben Stamme, so kann man nach gleicher Zeit in den einzelnen Kolben verschiedenwertige Gifte nachweisen. Der eine Kolben enthält ein Gift, welches akut wirkt, die anderen 2 Kolben ein Gift, welches in denselben Mengen erst in 24 Stunden tödlich wirksam ist. Diese Vorprüfung eignet sich überhaupt nicht dazu, über die Giftbildung Näheres zu erfahren, da durch die Filtration einmal mehr, einmal weniger Verlust zu verzeichnen ist. Für den Ausfall des Versuches spielen die mitinjizierten Bakterien bei der raschen Wirkung des Toxins keine Rolle. Bei derartigen systematischen Prüfungen ließ sich nachweisen, daß die Stärke des Giftes in derselben Kultur gleich ist, ob nach 3, nach 7, nach 15 Tagen die Kultur geprüft wird (0,5 ccm). Erst nach 37 Tagen hat der Giftwert abgenommen, so daß nicht einmal 1,0 ccm wirksam war. Jedenfalls haben diese Untersuchungen gezeigt, daß bereits in 3—4 Tage alten Kulturen wirksame Gifte nachzuweisen sind (s. Tab.).

Einfluß des Alters der Kultur auf die Toxizität.
(Geprüft intravenös an Kaninchen.)

Stamm	Alter der Kultur	Injizierte Menge	Resultat
El Tor V	2 Tage	2,0 ccm	† in 6 Minuten
		1,0 "	† in 20 "
		0,5 "	† in 2 Stunden
	3 "	2,0 "	† in 3 Minuten
		1,0 "	† in 8 "
		0,5 "	† in 10 "
	4 "	2,0 "	† in 5 "
		1,0 "	† in 10 "
		0,5 "	† in 12 "
	4 "	0,1 "	† in 24 Stunden
		1,0 "	† in 2 "
		1,0 "	† in 1 Stunde
El Tor II	4 "	1,0 "	† in 1/2 "
El Tor VI	4 "	1,0 "	† in 5 Minuten
El Tor V	5 "	1,0 "	† in 5 "
El Tor V	6 "	1,0 "	† in 5 "
		0,5 "	† in 15 "
		0,1 "	† in 3 Stunden
		0,5 "	† in 3 "
El Tor V	8 "	0,1 "	lebt
		0,5 "	† nach 16 Stunden
		0,1 "	lebt
El Tor V	10 "	1,0 "	"
		0,5 "	"

Zur Filtration haben wir anfangs frische ungebrauchte Reichel-Kerzen benützt. Die filtrierte Gifte erweisen sich vielfach schwächer als die Rohgifte, was durch die Eigenschaft der Filtermasse, Gift zurückzuhalten, zu erklären ist. Die Reichel-Kerzen sind diesbezüglich nicht gleich, insofern, als eine Kerze viel Gift zurückhält, eine andere weniger oder fast gar keines. Beispielsweise war das Rohgift vor der Filtration in Mengen von 1 ccm in 5 Minuten wirksam, nach der Filtration wirkten 2 ccm erst in 1 Stunde (s. Tab.). Ein andermal war das Filtrat ungeschwächt, so daß noch 1 ccm in 5 Minuten und 0,25 ccm in 1 Stunde wirksam waren. Interessant ist, daß verschiedenartige Toxine derselben Kultur,

Abnahme der Giftigkeit durch Filtration.
(Geprüft intravenös an Kaninchen.)

Stamm	Alter der Kultur	Injektionsmenge der Kultur	Resultat	Injektionsmenge des Filtrates	Resultat
El Tor V	4 Tage	2 ccm	† in 5 Minuten	2,0 ccm 1,0 „ (Reichel-Filt.)	† in 5 Minuten do.
El Tor V	6 Tage	2 ccm 1 „	† in 5 Minuten do.	2,0 ccm 1,5 „ 0,5 „ (Reichel-Filt.)	† in 1 Stunde † in 3 Stunden lebt
El Tor V	3 Tage	1 ccm	† in 5 Minuten	1 ccm 2 „ (Reichel-Filt.)	† in 2 Stunden † in 20 Minuten

das Hämotoxin und das tödliche Toxin, sich verschieden verhalten, indem das Toxin durch ein Filter zurückgehalten wird, dagegen das Hämotoxin nicht. Um diesem Nachteile abzuweichen, durch Filtration abgeschwächte Gifte zu erhalten, filtrieren wir jetzt die mit 0,5-proz. Karbolsäure versetzte Kultur durch ein Papierfilter so lange, bis die Flüssigkeit klar ist. Die derart gewonnenen Gifte lassen sich zu den Versuchen ebenso gut benützen, da die Menge Karbolsäure, wie wir durch eigene Versuche feststellen konnten, keine nachteiligen Wirkungen hat und in den Mengen, in welchen sich die Giftwerte bewegen, vertragen wird.

Was die Widerstandsfähigkeit des Giftes äußeren Einflüssen gegenüber (Licht, Luft, höhere Temperaturen etc.) betrifft, so sind unserer Erfahrung nach diese Gifte viel haltbarer als die der Saigonvibrionen. Eine derartige rasche Abnahme des Giftwertes, wie sie so häufig bei flüssigem Saigontoxin beobachtet wird, findet bei dem El Tor-Toxin nicht statt. Das Toxin behält monatelang, im Dunkeln bei Zimmertemperatur gehalten, seinen Giftwert. Ebenso verhält sich das Hämotoxin, welches monatelang, ohne abgeschwächt zu werden, sich flüssig konservieren läßt. Bei höheren Temperaturen (70° durch $\frac{1}{2}$ Stunde) wird das Toxin geschädigt, ebenso das Hämotoxin. Die Versuche, diese Gifte mit Ammonsulfat zu konzentrieren, fielen nicht günstig aus, es läßt sich nicht vollständig quantitativ ausfällen, wie beispielsweise folgender Versuch illustriert: 10 ccm Rohgift werden mit Ammonsulfat bis zur Sättigung versetzt. Der Niederschlag in 10 ccm Kochsalzlösung gelöst, davon wirken 0,5 ccm erst in 6—7 Stunden tödlich, wogegen 0,5 ccm der ursprünglichen Lösung in 5 Minuten wirksam sind.

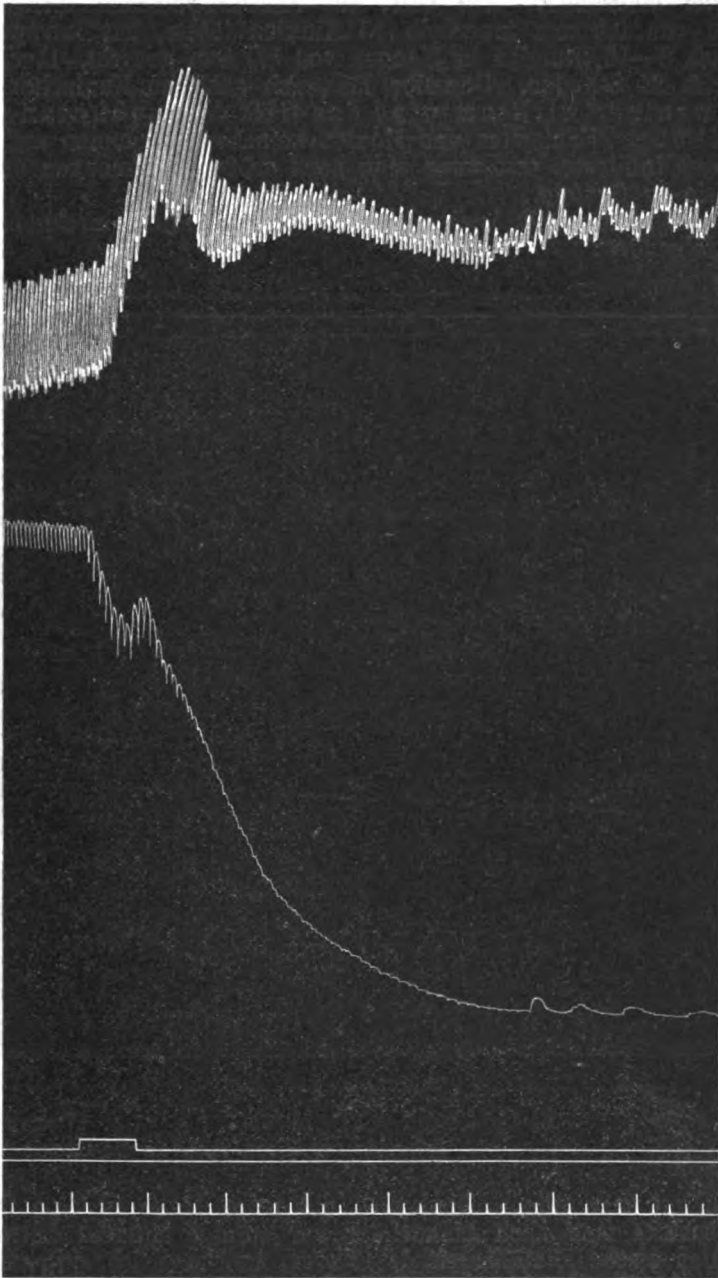
v. Eisler hat im Institute weitere Versuche angestellt, um das Gift zu konzentrieren. Weder mit Alkohol, noch mit phosphorsaurem Natron, noch mit Magnesiumsulfat gelang es, die Gifte in konzentrierter Form zu gewinnen. Weitere Versuche v. Eislers zeigten, daß das Gift durch Trypsin zerstört wird. Durch H_2O_2 wird es stark abgeschwächt. Die Versuche Doerr's (33) über die ungiftigen Modifikationen der Toxine durch Säuren lehren, daß die Säuregrade, welche Dysenterietoxin, Diphtherie- und Staphylo toxin in restituirbare ungiftige Modifikationen umwandeln, das Gift der El Tor-Vibrionen zerstören.

Die Wirkung dieser Gifte auf den Tierkörper äußert sich darin, daß nach intravenöser Injektion wirksamer Mengen der Tod der Tiere in ganz kurzer Zeit erfolgt. Oft ist das Tier sofort nach der Injektion schon krank und geht in 3—5 Minuten zu Grunde. In der Regel tritt der Tod innerhalb von 10—30 Minuten ein, wenn das

Gift wirksam ist, auf geringere Mengen des akut wirkenden Giftes gehen die Tiere innerhalb einiger Stunden oder gar nicht zu Grunde. Die Krankheitserscheinungen äußern sich darin, daß die Atemfrequenz der Tiere zunimmt, die Tiere können sich bald danach nicht mehr aufrecht erhalten und gehen nach einigen terminalen Konvulsionen zu Grunde. Bei der sofort vorgenommenen Obduktion findet man das Herz erweitert, gebläht, in den Ventrikeln flüssiges Blut. An den Organen sind mikroskopisch keine Veränderungen wahrzunehmen. Mit dem Hämotoxin den Tod in Zusammenhang zu bringen, geht nicht an, weil an dem sofort nach dem Tode untersuchten Blut keinerlei Zeichen von Auflösung zu sehen sind. Außerdem läßt sich ja direkt nachweisen, daß neben dem Hämotoxin noch ein Toxin vorhanden ist. Es gelingt manchmal mittels Filtration durch Reichel-Kerzen das Hämotoxin vom Toxin zu trennen. Dann ließ sich auch zeigen, daß in alten Bouillonkulturen das früher vorhandene akut wirkende Toxin nicht mehr nachweisbar ist, dagegen wohl das Hämotoxin. Auch durch Versuche mit normalem Pferdeserum läßt sich die Verschiedenheit der Hämotoxine und Toxine demonstrieren. Es besteht demnach kein Zweifel, daß wir die Wirkung im Tierkörper auf ein bestimmtes Gift zurückzuführen haben, welches ein spezifisches Produkt der *El Tor*-Vibrionen ist und welches wir, wie später gezeigt wird, als ein Toxin charakterisieren müssen. Dieses Gift wirkt in der beschriebenen Weise akut tödlich nur bei intravenöser Injektion und zwar auf Kaninchen, Meerschweinchen, Tauben, Hühner in gleicher Weise. Bei intraperitonealer Injektion wirkt das Gift ebenfalls,

Giftwirkung auf verschiedene Tiere bei verschiedener Art der Injektion.

Stamm	Alter der Kultur	Injektions-		Tierart	Resultat	Kontrollversuch an Kaninchen intravenös
		Menge	Modus			
El Tor V	10 Tage	10 ccm	intravenös	Hund (7500 g)	† nach 2 Std.	1,0 ccm, † nach 10 Min.
		5 "	"	Hund (6800 g)	† nach 10 "	
	10 " (Reichel-Filt.)	5 "	"	Meerschw.	† nach 2 Min.	1,0 ccm, † nach 6 Min.
		2 "	"	"	† nach 20 "	
		1 "	"	"	† nach 3 "	
	10 " (Reichel-Filt.)	2 "	"	Taube	† nach 1/2 Std.	do.
		1 "	"	"	† nach 1 "	
		2 "	"	Huhn	† nach 1 "	do.
	3 Tage	1 "	"	"	† nach 4 "	
		5 "	peritoneal	Meerschw.	† nach 16 "	2,0 ccm, † in 3 Min.
		3 "	"	"	do.	
		1 "	"	"	lebt	
	4 "	0,5 "	"	Maus	† in 3 Std.	1 ccm, † in 8 Min.
		0,1 "	"	"	† in 24 "	
	6 "	1,0 "	"	Ratte	lebt	2 ccm, † in 3 Min.
		0,5 "	"	"	"	
	3 "	5 "	subkutan	Meerschw.	"	2 ccm, † in 1 Std.
		3 "	"	"	"	
	10 "	5 "	"	Kaninchen	"	2 ccm, † in 1 Std.
		15 "	"	"	† nach 24 Std.	
		20 "	"	"	† nach 30 "	



Kurve 1.

Versuch 49. Katze 4 kg. Tod nach Injektion von 10 ccm Toxin in die V. jugul.

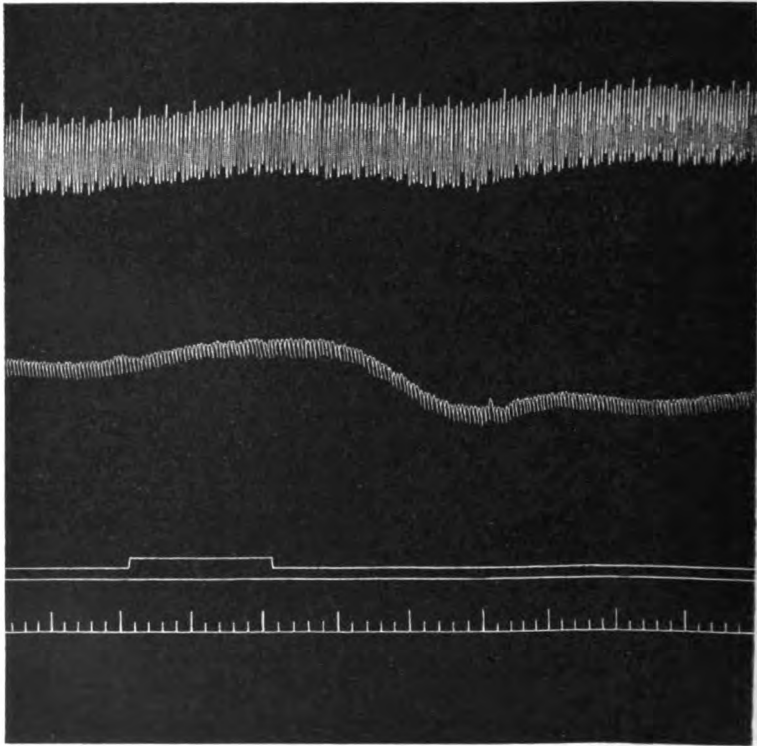
Oberste Kurve: Herzvolum.

Mittlere „ Blutdruck aus der Carotis.

Unterste „ Zeitmarkierung in Sekunden.

aber viel langsamer. Ein Gift, das Meerschweinchen intravenös in Mengen von 0,5 ccm innerhalb 15 Minuten tötete, hat intraperitoneal erst nach 8—16 Stunden in Mengen von 5,0 ccm gewirkt, 1 ccm tötete erst nach 24 Stunden. Dasselbe läßt sich auch an Kaninchen zeigen. Noch weniger wirksam wird das Gift bei subkutaner Einverleibung. Kaninchen und Meerschweinchen bekommen auf Mengen von 5 ccm Infiltrate, erst wenn man noch größere Giftmengen anwendet, gehen sie zu Grunde.

Die experimentelle Analyse, welche Rothberger durchgeführt hat, ergibt folgendes:



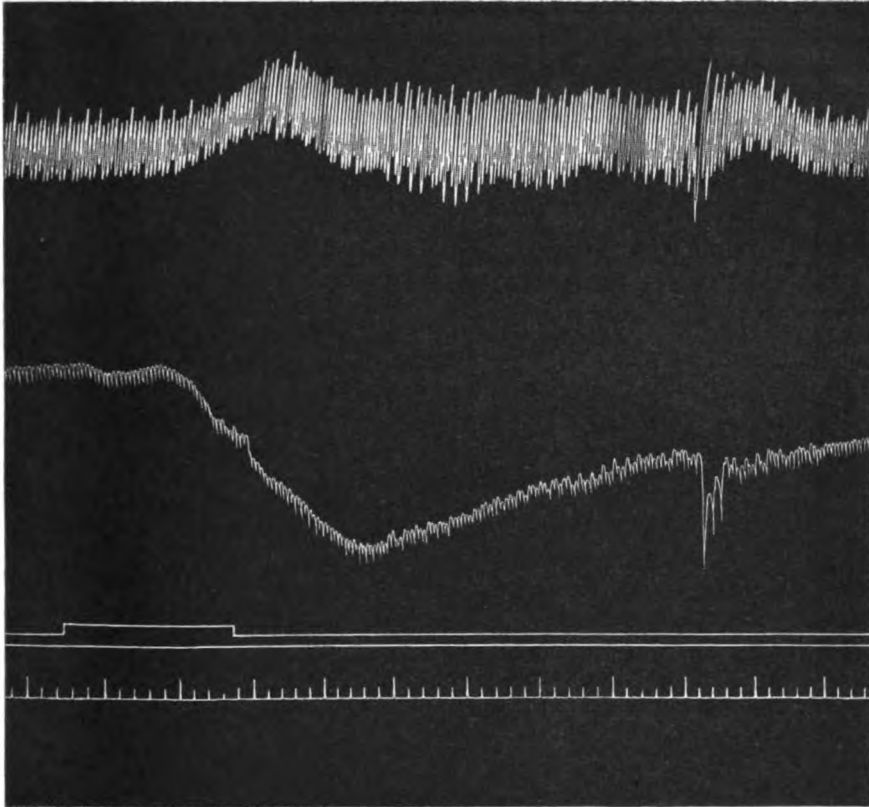
Kurve
Versuch 57 B.
Injektion von 1 ccm Toxin in die Carotis herzwärts.

Injiziert man einem Kaninchen die letale Dosis in eine Ohrvene, so beobachtet man nach Ablauf der nur wenige Minuten betragenden Inkubation starke Hinfälligkeit des Tieres, welche gleichzeitig mit rasch zunehmender Dyspnoë bis zum Tode fortschreitet.

Verbindet man am Kymographion die Carotis des Tieres mit dem Hg-Manometer, so sieht man, besonders nach Injektion größerer Toxinmengen, den Blutdruck stark abfallen und gleichzeitig das Herz sich blähen und dessen Ausschläge sich verkleinern.

Da diese Erscheinungen auch am kurarisierten und künstlich geatmeten Tiere in derselben Weise auftraten, muß der Angriffspunkt des

Giftes außerhalb des Atmungsapparates gesucht werden. Die mit der Drucksenkung einhergehende starke Blähung des Herzens und die sichtbare Verschlechterung seiner Tätigkeit weisen schon darauf hin, daß ein Herzgift vorliegen dürfte, was die nun folgenden Versuche am herausgeschnittenen Herzen (Langendorffscher Apparat) auch bestätigen. Nach Durchspülung des Herzens mit einem Blut (Ringer-Gemisch), welchem wechselnde Mengen von Toxin zugesetzt waren, trat unter starker Abnahme der Druckflußmenge, Verlangsamung und rasch



II.

Katze 2200 g.

Injektion von 1 ccm Toxin in die V. jugul.

zunehmender Verschlechterung der Herzaktion der Herzstillstand ein. Da sich aber an dem durchgelaufenen Blute deutliche Hämolyse zeigte, mußte erst untersucht werden, ob die Herzwirkung nicht überhaupt nur durch die Hämolyse zu stande komme. Es wurden also dieselben Versuche am überlebenden Herzen ohne Blut ausgeführt und zur Speisung des Herzens wurde die Ringersche Salzlösung angewendet. Auch hier zeigte sich das Toxin stets wirksam. Da es sich überdies herausstellte, daß bei Kaninchen selbst nach Injektion mehrfach letaler Toxinmengen keine Hämolyse auftritt, konnte der Einwand, daß die Hämolyse einen wesentlichen Anteil an der akuten Giftwirkung habe,

fallen gelassen werden. Bei den nun folgenden Versuchen an Katzen ¹⁾, welche durch Curare oder Durchschneidung des Halsmarkes immobilisiert waren, wurde der Blutdruck aus der Carotis und darüber die Volumenkurve des Herzens aufgezeichnet, welche mittels eines durch das Perikard abgedichteten Plethysmographen gewonnen wurde. Es zeigte sich nun nach intravenöser Injektion des Toxins eine Senkung des Blutdruckes und gleichzeitig eine Blähung des Herzens (kenntlich am Aufsteigen der Volumenkurve) (Kurve I), diese letztere, welche schon bei der Inspektion des Herzens aufgefallen war, zeigt wieder die primäre Herzwirkung, da sonst Drucksenkungen mit Verkleinerungen des Herzens einhergehen. Um nun zu entscheiden, ob außerdem noch eine wesentliche Wirkung des Toxins auf die Blutgefäße bestehe, werden vergleichsweise Injektionen einerseits in die rechte Jugularis, andererseits in die Carotis herzwärts vorgenommen. Bei der Injektion in die Carotis gelangt das Gift zunächst nicht in das Herz, sondern es wird von dem vorbeiströmenden Aortenblute mitgenommen und den peripheren Gefäßen zugetragen, um erst später und in stärkerer Verdünnung ins Herz zu gelangen. Ein Herzgift muß also bei intravenöser Injektion stärker wirken, ein Gefäßgift bei Injektion in die Carotis.

Das Toxin der El Tor-Vibrionen wirkt nun bei intravenöser Injektion weitaus stärker; die hier hervortretende Blähung des Herzens fehlt bei Injektion in die Carotis, die Drucksenkung ist schwächer (Kurve II). Eine wesentliche Wirkung des El Tor-Toxins auf die Gefäße besteht also nicht. Eine mäßige Erweiterung derselben kommt auch der sterilen Bouillon zu.

Die Schädigung des Herzens äußert sich in einer Abnahme seiner Kontraktionsenergie und in dem Umstande, daß es auf erhöhte Anforderungen nicht mit Blähung reagiert und keine erhöhte Arbeit zu leisten im stande ist. Während bei normalen Herzen Verengerung der peripheren Gefäße, z. B. durch Adrenalin oder Einengung des Strombettes durch Kompression der Aorta, von mächtigen Blutdrucksteigerungen gefolgt ist, wobei sich das normale Herz nur wenig bläht, treten nach diesen Eingriffen bei dem mit El Tor-Toxin vergifteten Tiere gar keine oder nur ganz unwesentliche Drucksteigerungen auf, das Herz bläht sich aber trotzdem. Daß dieses akut wirkende Gift wirklich ein Toxin ist, erscheint dadurch bewiesen, daß die Wirkungen desselben nach gleichzeitiger Injektion des spezifischen Antitoxins ausbleiben.

Antitoxin der El Tor-Vibrionen.

Die bei El Tor-Vibrionen nachgewiesenen Gifte (Blut- und tödliches Gift) müssen als Toxine anerkannt werden, denn wie aus dem Folgenden hervorgeht, gelingt es mit diesen Giften Tiere aktiv zu immunisieren und Antitoxine zu erzeugen.

Wertbestimmung des Antitoxins.

Zur Immunisierung werden entweder Ziegen oder Pferde verwendet, denen einerseits Bouillonkulturfiltrate (Toxin) subkutan, andererseits auch Agarkulturen injiziert werden. Ziegen lassen sich von der Subcutis ebenso wie Pferde ganz gut immunisieren. Man beginnt mit 0,5—1 ccm und steigt in Intervallen von 6—8 Tagen. Dem Pferd „Fine“ wurden im ganzen 907 ccm Toxin subkutan innerhalb von 10 Monaten injiziert: 5, 7, 10, 25, 30, 30, 40, 40, 30, 30, 20, 30, 40, 40, 40, 50, 50, 60, 60, 20.

1) Katzen sind gegen das Toxin viel widerstandsfähiger als Kaninchen.

20, 30, 40, 30 ccm bekam das Pferd in den oben genannten Zwischenräumen. Die Temperatur stieg gewöhnlich auf 38,8—39 nach einigen Stunden nach der Injektion und ging gewöhnlich nach 2 Tagen zurück. Das Pferd „Kalif“ wurde mit Agarkulturen des El Tor-Vibrio V behandelt.

Die Prüfung der Sera erfolgt in der Weise, daß das Serum sowohl auf seinen Neutralisationswert (gemischt mit Toxin *in vitro*) als auch auf seinen kurativen Wert (bei getrennter Injektion) geprüft wird. Die Auswertung geschieht einerseits an Kaninchen mittels intravenöser, andererseits am Meerschweinchen mittels peritonealer Injektion. Zu Heilversuchen mit lebenden Bakterien werden hauptsächlich Mäuse herangezogen.

Bevor wir daran gingen, die spezifische Neutralisationsfähigkeit der Immunsera auf das El Tor-Toxin festzustellen, haben wir in einigen Versuchen Normalsera auf diese Eigenschaft geprüft.

Wie bereits der Eine von uns (Kraus) für das normale Serum dem Toxin des Vibrio Nasik gegenüber feststellen konnte, gelingt es auch hier, im normalen Ziegen- und Pferdeserum Substanzen nachzuweisen, welche das El Tor-Gift zu neutralisieren im stande sind. Diese neutralisierende Wirkung tritt aber erst zu Tage, wenn Serum und Gift gemischt ca. $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° gestanden haben. Injiziert man das Gemisch sofort, so gehen die Tiere ebenso akut zu Grunde wie auf das Gift allein. Daß ein derartiges Serum bei getrennter Injektion ebenfalls nicht im stande sein wird, das Toxin zu entgiften, ist *a priori* anzunehmen und außerdem noch durch besondere Versuche bewiesen worden. Mittels dieser Versuchsanordnung ließ sich auch feststellen, daß im Serum der mit dem Cholera-vibrio Pfeiffer immunisierten Pferde (Bouillonkultur, Agarkultur) ein Antitoxin enthalten ist, welches sich ebenso verhält wie das normale. Es bedarf einer $\frac{1}{2}$ -stündigen Einwirkung des Serums (Pferd Diana, Edith), um die El Tor-Toxine zu neutralisieren; bei kurzem Kontakt vermag 0,5—1 ccm Serum das Toxin nicht unwirksam zu machen, dagegen wirken 0,1 ccm bei $\frac{1}{2}$ -stündigem Kontakt. Demgegenüber besitzt das durch Immunisierung (Filtrate von Bouillonkulturen, Agarkulturen der El Tor-Vibrien) gewonnene Serum die Eigenschaft, die Toxine der El Tor-Vibrien nach kurzem Kontakt und auch bei getrennter Injektion zu neutralisieren. Prüft man in systematischer Weise im Verlaufe der Immunisierung eines Tieres in Intervallen die Wirksamkeit des Serums, so kann man durch die verschiedene Prüfungsart, ob gemischt oder getrennt, Änderungen der Wirksamkeit des Serums konstatieren. Mittels dieser Art der Prüfung, wobei das Serum sowohl auf seine Kontaktwirkung als auch auf seine kurative Eigenschaft (Avidität) analysiert wird, konnten Tatsachen erhoben werden, welche von prinzipieller Bedeutung für die therapeutische Verwendbarkeit der Antitoxine sein dürften. Es ließ sich folgendes feststellen:

1) Das Immunserum ist im stande, zum Unterschiede vom normalen Serum, bereits nach kurzem Kontakt das Toxin zu neutralisieren, es vermag aber nicht bei getrennter gleichzeitiger Injektion selbst in viel größeren Mengen zu wirken.

2) Nach weiterer Immunisierung ist auch bei gleichzeitiger getrennter Injektion das Serum ebenso wirksam wie bei kurzer Kontaktwirkung *in vitro*.

3) Die Wirksamkeit des Serums kann sich derart ändern, daß ein bei getrennter Injektion wirksam gewesenes Serum diese Eigenschaft verliert und nur noch nach kurzem Kontakt wirkt. Diese Veränderung,

die wir als eine Abbaurückkehr zum Typus des Normalserum ansehen dürfen, geht entweder im Organismus vor sich bei Tieren, die lange Zeit nicht mehr immunisiert werden oder schwer geschädigt sind (Blutungen) und erfolgt auch außerhalb des Organismus.

Zur Illustration des eben Gesagten seien hier Protokolle von immunisierten Ziegen und Pferden angeführt. Diese Ermittlungen gelten nur für die Prüfung der akuten Giftwirkung bei intravenöser Injektion an Kaninchen (600—800 g).

Serum	Menge gemischt injiziert		Resultat	Menge getrennt injiziert		Resultat
	Toxin	Serum		Toxin	Serum	
Ziege (immunisiert mit El Tor-Toxin)	1,0 ccm	0,5 ccm	† in 10 Min.	—	—	—
1. Aderlaß 17. Sept. 1906						
2. Aderlaß 2. Nov. 1906	1,0 „	0,5 „	lebt	1,0 ccm	0,5 ccm	lebt
	1,0 „	0,1 „	† in 1 Std.	1,0 „	0,1 „	† in 10 Min.
	1,0 „	0,05 „	† in 10 Min.	—	—	—
3. Aderlaß 5. Dez. 1906	0,5 „	0,5 „	lebt	0,5 „	0,5 „	lebt
	0,5 „	0,1 „	„	0,5 „	0,1 „	† in 30 Min.
	0,5 „	0,05 „	† in 1 Std.	—	—	—
Pferd „Fine“ (immunisiert mit El Tor-Toxin)	0,5 ccm	0,5 ccm	lebt	0,5 ccm	1,0 ccm	† n. 24 Std.
	0,5 „	0,1 „	„	0,5 „	0,5 „	† n. 1 „
	0,5 „	0,05 „	„			
1. Aderlaß (nach ca. 3-monatl. Injektion 12 ccm Toxin)						
2. Aderlaß 17. Febr. 1906	0,5 „	0,1 „	„	0,5 „	0,5 „	lebt
	0,5 „	0,05 „	„	0,5 „	0,2 „	† in 5 Min.
Pferd „Kalif“ (immunisiert mit El Tor-Agarkultur)	1,0 ccm	0,05 ccm	lebt	1,0 ccm	2,0 ccm	† in 24 Std.
1. Aderlaß 18. Sept. 1906						
2. Aderlaß 30. Okt. 1906	1,0 „	0,1 „	„	1,0 „	0,5 „	† in 5 Min.
	1,0 „	0,05 „	† in 20 Min.	1,0 „	1,0 „	lebt

Bisher hat man allgemein bei der Prüfung der Antitoxine den kurativen Effekt nicht berücksichtigt, da man von der Voraussetzung ausging, daß der kurative Wert nur von der Menge der im Mischungs-werte nachgewiesenen Antitoxine abhängig sei. Nun haben bereits Roux (34), Martin und Cruveilhier (35) darauf aufmerksam gemacht und in Versuchen gezeigt, daß der nach Ehrlich in vitro gefundene präventive Wert des Diphtherieantitoxins für die kurative Wirkung des Serums nicht maßgebend sein dürfte. Minderwertige Sera geben bei Heilversuchen eventuell bessere Resultate als hochwertige. Gleiche Verhältnisse konnten von Kraus und Doerr für das Dysenterie-antitoxin nachgewiesen werden. Das Antitoxin kann sich in vitro als neutralisierend erweisen, ohne daß selbst Multipla einer solchen neutralisierenden Serumdosierung im stande wären, bei gleichzeitiger getrennter intravenöser Injektion entgiftend zu wirken. Andererseits können sich die Vitrowerte mit dem kurativen Wert vollkommen decken. Jedenfalls sprechen diese an Dysenterieantitoxin und jetzt an El Tor-Antitoxin erhobenen Befunde, die nach den Untersuchungen von Kraus und Schwoner auch für das Diphtherieantitoxin Geltung haben dürften, mit

aller Sicherheit dafür, daß der Vitrowert nicht identisch sein muß mit dem Getrennt- oder Kurativwert. Daraus ergibt sich natürlicherweise, daß diesen Tatsachen bei der Einführung der Antitoxine in die Praxis Rechnung getragen werden muß. Dysenteriesera, welche zu Heilzwecken dienen sollen, müssen im Tierversuch bei getrennter Injektion wirksam sein und nur solche Sera werden in den Handel gebracht. Aus den hier mitgeteilten Versuchen dürfte sich gleiches auch für Choleraantitoxine (resp. El Tor-Antitoxine) ergeben.

Ueber das Verhalten der El Tor-Antitoxine gegenüber Toxinen anderer Vibrionen.

Im früheren Kapitel über die Choleraantitoxine konnte gezeigt werden, daß die Sera, welche entweder mit Cholerakultur oder mit Toxin wirklicher Cholera-vibrionen gewonnen worden sind, bloß die Gifte der Cholera-vibrionen zu beeinflussen im stande sind und nicht die der El Tor- oder andersartiger Vibrionen. Im Gegensatze hierzu läßt sich zeigen, daß das mit El Tor-Toxin gewonnene Serum nicht bloß die Toxine der El Tor-Vibrionen neutralisiert, sondern auch die anderer Vibrionen.

Tabelle.
(Geprüft intraperitoneal an Meerschweinchen.)

Toxin	Serum	Menge des		Resultat
		Toxins	Serums	
Saigon K	Fine (immunisiert mit El Tor)	3,0 ccm	0,1 ccm	lebt
	Normalserum	3,0 „	0,3 „	† nach 8 Stunden
	—	3,0 „	—	† nach 6 „
	Kalif (immunisiert mit El Tor)	1,0 „	0,5 „	lebt
	Normalserum	1,0 „	0,25 „	† in 24 Stunden
	—	1,0 „	0,5 „	† in 24 „
Saratow S 10	Kalif	2,0 ccm	0,5 ccm	lebt
	—	2,0 „	0,3 „	—
	Normalserum	2,0 „	0,5 „	† in 10 Stunden
	—	2,0 „	—	do.
(Geprüft intravenös an Kaninchen.)				
V. Nasik	Kalif	2,0 ccm	0,5 ccm	lebt
	—	2,0 „	0,1 „	—
	Normalserum	2,0 „	0,5 „	† in 10 Minuten
	—	2,0 „	—	do.
V. El Tor non spez. No. 10	Kalif	2,0 ccm	1,0 ccm	lebt
	Normalserum	2,0 „	1,0 „	† in 1/2 Stunde
V. Elvers	Ziege No. 8 (immunisiert mit El Tor)	1,0 ccm	0,5 ccm	lebt
	Normalziegenserum	1,0 „	0,5 „	† in 10 Minuten
	—	1,0 „	—	† in 5 „

Wie aus den Protokollen hervorgeht, neutralisieren die Sera, gewonnen mit El Tor-Toxin, das Toxin der Saigon-, der russischen und Hamburger Cholera-vibrionen und auch andersartiger Vibrionen, wie z. B. des *Vibrio Nasik*, Elvers, Massana. Auf diese Erscheinung der Neutralisation nahe verwandter Toxine durch ein andersartiges Antitoxin haben zuerst Kraus und Pribram aufmerksam gemacht. Es geht aus dem Vorangehenden hervor, daß Antitoxine, gewonnen mit dem El Tor-Toxin, als ein Universalantitoxin gegenüber den Toxinen pathogener Vibrionen anzu-

sprechen sein dürften. Es scheint auch, daß die mit dem El Tor-Toxin darzustellenden Antitoxine leichter zu gewinnen sind als die mit dem Saigontoxin erzeugten und daß ihnen auch bessere kurative Eigenschaften zukommen dürften als den Choleraantitoxinen.

Ueber Heilversuche mit dem El Tor-Antitoxin.

Neben dieser Prüfung auf die akute Herzwirkung durch intravenöse Injektion an Kaninchen wurden die Antitoxine auch an Meerschweinchen, welchen das Toxin peritoneal injiziert wurde, geprüft. Diese Art der Prüfung ist insofern der früheren vorzuziehen, als die Giftwirkung erst nach längerer Zeit eintritt.

Serum	Menge gemischt		Meerschweinchen No.	Resultat
	Toxin	Serum		
Kalif	1,0 ccm	0,1 ccm	143	lebt
	1,0 "	0,05 "	164	† in 24 Stunden
Kalif	2,0 "	0,5 "	83	lebt
	2,0 "	0,1 "	96	† in 24 Stunden
Kamee (Saigon)	2,0 "	0,5 "	93	†
Gemma (Saigon)	2,0 "	0,5 "	14	†
Komtesse (Dysenterie)	2,0 "	0,5 "	26	†

Es war bei der langsamen Giftwirkung des peritoneal injizierten Toxins voraussichtlich möglich, daß sich Heilversuche mit diesen Seris werden demonstrieren lassen. Daß bei intravenöser Applikation des Toxins, welche den akuten Tod der Tiere innerhalb 30 Minuten zur Folge hat, eine Heilwirkung nicht ermittelt werden kann, ist a priori anzunehmen. Man kann wohl zeigen, daß das Antitoxin im stande sei, die letale Dosis des Toxins bei getrennter, aber sofortiger Injektion zu neutralisieren, nicht aber, wenn Gift wenige Minuten vorher injiziert wurde. (Wir hatten einmal ein abgeschwächtes Toxin in Händen, welches bei intravenöser Applikation erst in 4 Stunden Kaninchen tötete. Mit diesem Gifte wurden auch Heilversuche angestellt. 0,1 ccm Serum vermochte 2 ccm Toxin in vitro zu neutralisieren. Im Heilversuch, wobei die letale Giftmenge 10 Minuten vorher intravenös injiziert wurde, gelang es aber nicht, selbst mit 2 ccm Serum das Tier zu retten.)

Es zeigt sich, daß bereits nach kurzer Zeit (15–30 Minuten) die 6-, 9- und sogar 40-fache neutralisierende Dosis Serum nicht im stande war, die 1–2-fach tödliche Menge des peritoneal injizierten Toxins nachträglich zu paralysieren. (Häufig sieht man wohl, daß der Tod der mit Serum behandelten Tiere verzögert war, insofern, als die Kontrolltiere in 8–10 Stunden zu Grunde gegangen sind im Gegensatz zu den Behandelten in 24–48 Stunden.)

Serum	Menge des		Zeit zwischen Gift- und Serum-injektion	Meerschweinchen (peritoneal) No.	Resultat
	Serums	Toxins			
Kalif (Aderlaß vom 30. Okt. 1906)	3 ccm	3 ccm	30 Minuten	57	† in 24 Stunden
	2 "	3 "	30 "	96	† in 48 "
(0,3 ccm Vitrowert)	1 "	3 "	15 "	93	† in 24 "
Kalif (Aderlaß vom 18. Dez. 1906)	4 "	1 "	30 "	110	do.
	3 "	1 "	30 "	185	do.
(0,1 ccm Vitrowert)	1 "	1 "	30 "	167	do.

Daß die Heilwirkung der Antitoxine nicht nachweisbar ist, dürfte, wie auch weitere Versuche tatsächlich zeigen, an der großen Giftempfindlichkeit der Meerschweinchen dem El Tor-Gift gegenüber gelegen sein. Ganz gleichlautende negative Resultate wie in den Heilversuchen mit Toxin lassen sich solche auch in Heilversuchen mit Kulturen nachweisen. Es gelingt nicht, schon nach kurzer Zeit die bereits infizierten Tiere am Leben zu erhalten.

2 Oesen El Tor sp. V subkutan, nach 1 Std. 0,5 ccm Kalif	perit. Meerschw. tot
2 " " " " " " " " 1 " 0,1 " Kontrolle	" " "
2 " " " " " " " " " " " "	" " "
1/2 Oese " " " " " " " " 1 Std. 1,0 ccm Kalif	" " "
1/2 " " " " " " " " 15 Min. 1,0 " "	" " "
1/2 " " " " " " " " 30 " 1,0 " Ziegenimmunser.	" " "
1/10 " " " " " " " " 1 Std. 1,0 " Fine	" " "

Auch gegenüber den Choleravibrionen und deren Toxin war das Antitoxin im Heilversuch an Meerschweinchen unwirksam.

Bei Besprechung der Heilversuche mit Choleraantitoxin haben wir die Annahme ausgesprochen, daß wir hier ähnlichen Verhältnissen begegnen dürften, wie sie Kraus und Lipschütz (24) in Heilversuchen mit verschiedenartigen Hämotoxinen erfahren haben. Die Versuche haben gelehrt, daß die von Madsen (36) durchgeführten Heilversuche mit Tetanushämotoxin keine Verallgemeinerung zulassen. Nicht alle Hämotoxine können in ihrer hämolytischen Wirkung im Heilversuch nach gleicher Zeit selbst durch sehr große Antihämotoxindosen gleich beeinflußt werden. Zur Illustration des Gesagten seien Heilversuche mit Vibrionenhämotoxin angeführt, namentlich auch die mit dem Hämotoxin der spezifischen El Tor-Vibrionen, aus welchen hervorgeht, daß schon 5 Minuten nach Zusatz des Giftes zu den Blutkörperchen selbst die 1000-fach neutralisierende Menge Antihämotoxin die Lösung der Blutzellen aufzuhalten vermag.

(Als einfach lösende Dosis wird jene Giftmenge gewählt, welche nach 1 Stunde bei 37° löst. Das Serum, gemischt mit Toxin 1/2 Stunde bei 37°, hindert in einer Menge von 0,001 ccm die Hämolyse.)

Menge des Serums	Zusatz des Serums nach	V. Nasik 0,5 ccm	V. Metschnikoff 0,5 ccm	V. El Tor non spez. No. 2 0,5 ccm	V. El Tor non spez. No. 15 0,5 ccm	V. El Tor non spez. No. 5 0,005 ccm
1,0 0,5 0,1 0,05 0,01 0,005	sofort	partiiell komplett	partiiell komplett	partiiell komplett	komplett	keine Hämolyse Spur partiiell
1,0 0,5 0,1 0,05 0,01 0,005	5 Min.	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
1,0 0,5 0,1 0,05 0,01 0,005	10 Min.	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett

Daß unsere Annahme von der stärkeren Giftempfindlichkeit der Meerschweinchen und der stark deletären Wirkung des Giftes auf den Meerschweinchenorganismus das Richtige trifft, zeigen Heilversuche an weniger empfindlichen Tieren. Die ungünstigen Resultate im Meerschweinchenversuch schienen uns nicht von der kurativen Unwirksamkeit des Antitoxins, sondern von dem oben erwähnten Umstande abhängig

	0,5 ccm Toxin El Tor V	peritoneal.	Maus	† nach 4 Stunden
	0,1 " " " "	" " "	"	† in 24 Stunden
Kontrolle	1,0 " " " "	intravenös.	Kaninchen	† nach 10 Minuten
	5,0 " " " "	peritoneal.	Meerschweinchen	† in 16 Stunden
	3,0 " " " "	"	"	† in 16 Stunden
	1,0 " " " "	"	"	lebt

Auswertung von El Tor-Toxin intraperitoneal an Mäusen.

Menge des Toxins	Resultat
1,0 ccm	† nach 3 Stunden
0,5 "	do.
0,2 "	† nach 24 Stunden
0,1 "	do.

Heilversuch gegen peritoneale Toxininjektion mit peritonealer Seruminjektion 1 Stunde nach der Vergiftung. (Toxinmenge 0,5 ccm.)

Menge des Toxins	Resultat für Serum Kalif	Resultat für Serum Kamee	Resultat für Normalserum I (Komtesse)	Resultat für Normalserum II (Leutnant)
1,0 ccm	lebt	lebt	lebt	†
0,5 "	"	†	†	†
0,1 "	"	†	†	†
0,05 "	"	†	—	—
0,01 "	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

Auswertung der Kultur El Tor V an Mäusen. (Subkutane Injektion.)

Menge der Kultur	Resultat
$\frac{1}{10}$ Oese	† in 6 Stunden
$\frac{1}{50}$ "	† in 6 "
$\frac{1}{100}$ "	† in 14 "
$\frac{1}{500}$ "	lebt

Neutralisationsversuch bei gleichzeitiger Injektion von Kultur- und Serumgemisch subkutan. Kulturmasse = $\frac{1}{100}$ Oese.

Menge des Serums	Resultat für Serum Kalif	Resultat für Serum Kamee	Resultat für Normalserum I (Leutnant)	Resultat für Normalserum II (Komtesse)
0,5 ccm	lebt	lebt	lebt	lebt
0,1 "	"	"	"	"
0,05 "	"	"	†	†
0,01 "	"	†	†	†
0,005 "	"	†	—	—
0,001 "	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

Heilversuch gegen subkutane Infektion bei peritonealer Serum-injektion 1 Stunde nach der Kulturinjektion ($\frac{1}{100}$ Oese).

Menge des Serums	Resultat für Serum Kalif	Resultat für Serum Kamee	Resultat für Normalserum I	Resultat für Normalserum II
0,5 ccm	lebt	†	†	†
0,1 "	"	†	†	†
0,05 "	"	†	—	—
0,01 "	†	†	—	—
Kontrolle	†	†	†	†

zu sein. Wir haben deshalb so wie in den Cholera-ersuchen nach einer Tierart gesucht, welche weniger giftempfindlich ist als das Meerschweinchen, aber noch so empfindlich, daß sie zu Versuchen herangezogen werden konnte. Die weiße Maus verhält sich, wie die Versuche lehren, dem El Tor-Toxin gegenüber weniger empfindlich als das Meerschweinchen, insofern, als relativ große Dosen notwendig sind, um Mäuse zu töten, und das Gift nach peritonealer Injektion erst nach 24 Stunden zum Tode führt.

Trotzdem es uns nicht gelingen wollte, selbst bei peritonealer Injektion des Giftes schon nach $\frac{1}{2}$ Stunde Meerschweinchen mit Antitoxin am Leben zu erhalten, zeigen die vorangehenden Versuche, daß Heilversuche bei der Maus ohne weiteres durchführbar sind. Es gelingt selbst mit 0,05 ccm antitoxischem Serum Mäuse, welche die sicher 5-fach tödliche Toxindosis 1 Stunde vorher injiziert bekamen, am Leben zu erhalten. Ganz gleiche Resultate verzeichnen wir auch in Versuchen, in welchen statt Toxin lebende Kultur verwendet wurde. In Versuchen am Meerschweinchen, in welchen im Heilversuch sehr geringe Mengen (1—2—4-fach tödliche Dosen) injiziert wurden, konnten die Tiere vor dem Tode auch nicht schützen. Mäuse, welche mit Kultur infiziert wurden, konnten noch nach 1 Stunde geheilt werden. Diese Resultate decken sich vollkommen mit den an Mäusen mit Cholera-vibrien festgestellten. Außerdem sind aber diese Versuche noch in einer weiteren Richtung lehrreich. Es geht aus diesen Versuchen unzweideutig die Tatsache hervor, daß die experimentell gesetzte Cholera-infektion eine Toxikose sein muß, da der Heileffekt eines Serums nur von dessen antitoxischen Eigenschaften, nicht von dessen bakteriolytischen abhängig ist. Das Serum, gewonnen mit Toxinen der Saigonstämme (Cholera), vermag die Cholera-toxine zu neutralisieren, nicht aber die der El Tor-Stämme. Es ist auch klar, daß im Heilversuch dieses Serum nur die Mäuse zu heilen im stande ist, die mit Cholera-vibrien infiziert sind, wogegen die mit El Tor-Vibrien infizierten Mäuse der Infektion erliegen, trotz Anwendung größerer Serumdosen. Das Serum wirkt wohl bakteriolytisch, löst El Tor-Vibrien ebenso auf wie Cholera-vibrien, da aber das El Tor-Toxin nicht neutralisiert wird, müssen die Mäuse zu Grunde gehen. Umgekehrt hat das mit El Tor-Toxin gewonnene Antitoxin auch Heileffekte bei mit Cholera-vibrien infizierten Mäusen aufzuweisen.

Wenn wir all die vorgebrachten Tatsachen zusammenfassend betrachten, so geht daraus hervor, daß verschiedenen Vibrien und auch dem Cholera-vibrio die Eigenschaft zukommt, Gifte (endo- und ektocelluläre) zu bilden, die wir vermöge ihrer antigenen Wirkung als bakterielle Toxine zu

charakterisieren haben. Die mit diesen Toxinen gewonnenen Antitoxine sind im stande, das Toxin der Vibrionen (Endo- und Ektotoxin) in vitro zu neutralisieren und auch beim Heilversuche im Organismus.

Das mit den Toxinen der spezifischen El Tor-Vibrionen gewonnene Antitoxin wirkt nicht nur auf die homologen Gifte ein, so wie das Antitoxin der Cholera vibrio gifte, sondern auf Gifte der verschiedenen toxischen Vibrionen und auch auf die des Cholera vibrio.

Die El Tor-Gifte sind besser darzustellen als die Cholera gifte und auch haltbarer als die letzteren, dürften daher zur Bereitung therapeutisch verwendbarer Antitoxine sich als brauchbarer erweisen als die Cholera gifte.

Zusammenfassung.

Auf Grund der vorliegenden und früherer Arbeiten müssen wir sagen, daß die Cholera asiatica als Toxikose aufzufassen sei. Die Ursache der Vergiftung sind die vom Cholera vibrio gebildeten Toxine. Das Serum aktiv immunisierter Tiere besitzt spezifisch antitoxische Eigenschaften gegenüber dem Cholera toxin. Dieses Antitoxin vermag nicht nur die Gifte in vitro zu neutralisieren, sondern entfaltet auch bei Wahl entsprechender Versuchstiere eine Heilwirkung. Aber auch gegenüber der Infektion zeigt sich das Antitoxin im Heilversuche wirksam.

Es ist zu erwarten, daß die hier experimentell gewonnenen Erfahrungen auch für den Menschen Geltung haben werden.

Die Endotoxinlehre Pfeiffers sowie die aus derselben abgeleitete Negation einer antitoxischen Cholera therapie dürfte durch diese Versuche widerlegt sein.

Literatur.

- 1) Koch, Berl. klin. Wochenschr. 1884.
- 2) Petri, Arb. a. d. kais. Gesundheitsamt. Bd. VI. 1890.
- 3) Gamaleia, Arch. de méd. expér. 1892.
- 4) Westbrook, Ann. Pasteur. 1894.
- 5) Brieger u. Fraenkel, Berl. klin. Wochenschr. 1890.
- 6) Pfeiffer, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XI, XV, XVIII, XX.
- 7) Besredka, Ann. Pasteur. 1905. 1906.
- 8) Macfadyen, Centralbl. f. Bakt. etc. 1907.
- 9) Hahn, Münch. med. Wochenschr. 1906.
- 10) Ransom, Dtsche med. Wochenschr. 1895.
- 11) Metschnikoff, Roux u. Salimbeni, Ann. Pasteur. 1896.
- 12) Brau u. Denier, Compt. rend. de l'Acad. des sc. 1906. Ann. Pasteur. 1896.
- 13) Kraus, Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIV. 1903.
- 14) Kraus u. Pribram, Wien. klin. Wochenschr. 1905. Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.
- 15) Kraus u. Prantschhoff, Wien. klin. Wochenschr. 1906. Centralbl. f. Bakt. etc. 1906.
- 16) Gotschlich, Conseil sanitaire mar. etc. 1905.
- 17) Pfeiffer u. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV.
- 18) Wassermann, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXII.
- 19) Kraus u. Doerr, Zeitschr. f. Hygiene. 1906.
- 20) Conradi, Deutsche med. Wochenschr. 1903.
- 21) Kraus u. v. Stenitzer, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
- 22) v. Stenitzer, Handbuch d. Techn. u. Method. d. Immunitätsforsch. Bd. I. Jena 1907.
- 23) van Ermengem, Compt. rend. de l'Acad. d. sc. T. C.

- 24) Kraus u. Lipschütz, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLVI.
- 25) Doenitz, Arch. intern. de pharmacodynamie. T. V. 1899. Fasc. 5, 6.
- 26) Kolle u. Meinicke, Bull. quarant. hebdom. etc. 1905. — Klin. Jahrb. 1905.
- 27) Ruffer, Brit. med. Journ. 1907.
- 28) Prochnik, Wien. klin. Wochenschr. 1905.
- 29) Mühlens u. Ravens, Zeitschr. f. Hygiene.
- 30) Praussnitz, Berl. klin. Wochenschr. 1905.
- 31) Kolle u. Gotschlich, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XLIV.
- 32) Neufeld u. Haendel, Arb. a. d. kaiserl. Gesundh.-Amt. Bd. XXVI. 1907.
- 33) Doerr, Wien. klin. Wochenschr. 1907.
- 34) Roux, Ber. des X. intern. hyg. Kongr. in Paris. 1900.
- 35) Cruveilhier, Annales de l'Inst. Pasteur. 1904, 1905.
- 36) Madsen, Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXII.

Nachdruck verboten.

Zur Behandlung der Dourine.

Therapeutische Versuche mit Trypanrot an Laboratoriumstieren.

[Aus der epizootologischen Abteilung des kaiserl. Instituts für experimentelle Medizin zu St. Petersburg (Leiter: A. Wladimiroff)].

Von **W. L. Yakimoff.**

I.

Vor bemerkungen.

Angesichts des bedeutenden Interesses, das die Beschälseuche, ihre Therapie und die Erfolge, die die Anwendung des Trypanrotes in der letzteren verspricht, bieten, haben wir eine Reihe von Untersuchungen über die Behandlung mit diesem Mittel an Tieren unternommen, welche mit dem Rougetschen Trypanosoma infiziert waren.

Das Infektionsmaterial verdanken wir den Herren Laveran und Mesnil aus dem Pariser Pasteurschen Institute.

Folgende Tiere wurden mit Trypanrot behandelt: Weiße Mäuse, graue Ratten, Meerschweinchen, Kaninchen und ein Hund.

Das Trypanrot wurde subkutan in 1—2—4-proz. Lösung einverleibt.

Der injizierte Farbstoff beginnt sehr schnell das äußere Tegument zu verfärben. Wenn z. B. 0,5 ccm einer 1-proz. Lösung unter die Bauchhaut einer Maus injiziert wird, so bemerkt man im Laufe der ersten halben Stunde das Rotwerden der haarlosen Stelle an den Pfoten und des Bauches. Im Anfange der zweiten halben Stunde wird die Verfärbung der Schwanzhaut konstatiert. Vor Ablauf der ersten Stunde sind schon die Ohren und Augen rot verfärbt. Die Verfärbung der ganzen Haut hält viele (5—8) Wochen an und verschwindet alsdann nur allmählich.

Bevor wir über die Resultate unserer Experimente berichten, wollen wir kurz den Krankheitsverlauf bei den, mit dem Rougetschen Trypanosoma infizierten und nicht behandelten Tieren beschreiben.

Bei den weißen Mäusen erscheinen die Trypanosomen im Blute am 3. Tage nach der subkutanen Injektion eines halben Tropfens von an Trypanosomen reichem mit Citrat vermischem Blute einer Maus (wir wendeten folgende Mischung an: Chlornatrium 0,8 g, zitronsaures Natrium 1 g und destilliertes Wasser 100 g). Wenn die Trypanosomen in solcher Menge injiziert sind, daß in einem Gesichtsfelde (Ok. 4 und Ob. DD. Zeiss) 1 Trypanosoma enthalten ist, so erscheinen sie im Blute etwas später, nämlich am 5. Tage nach der Infektion.

Die Zahl der Trypanosomen wächst täglich an. Wie Frl. N. A. Tschernewskaja in unserem Laboratorium berechnet hat, enthielt 1 ccm Blut am letzten Lebenstage 728 000 Trypanosomen bei einer, und 1 380 000 bei einer anderen Maus. Ich selbst fand bei einer Maus 2 Tage vor dem Tode 144 000 Trypanosomen in 1 ccm Blut und 384 000 bei einer anderen am 3. Tage nach ihrem Eindringen ins Blut.

Je mehr die Zahl der Trypanosomen im Blute anwächst, desto mehr sinkt die Zahl der roten Blutkörperchen. Bei einer Maus sank sie von 9 791 000 vor der Infektion auf 6 640 000 und bei einer anderen von 9 532 000 auf 7 240 000 (Tschernewskaja).

Der Tod tritt gewöhnlich 3—4 Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute ein; doch beobachtete ich eine Maus, die erst 20 Tage nach dem Eindringen der Trypanosomen ins Blut erlag.

Bei den grauen Ratten erscheinen die Trypanosomen im Blute 5 Tage nach subkutaner und 48 Stunden nach intraperitonealer Injektion. Der Tod tritt 2—3—4 Tage nach dem Eindringen der Trypanosomen ins Blut ein.

Bei den Meerschweinchen variiert der Moment des Auftretens der Trypanosomen im Blute je nach der Quantität der einverleibten Infektionserreger und dem Ansteckungsmodus (subkutan oder intraperitoneal): die Inkubationsdauer schwankt dabei von 2 Tagen bis über 2 Wochen. Die Tiere bleiben am Leben 20 Tage bis 3 Monate und selbst etwas mehr. Die Zahl der im Blute enthaltenen Trypanosomen ist schwankend: manchmal verringert sie sich, um darauf wieder anzusteigen; ja, es kommt selbst vor, daß sie gänzlich aus dem Blute verschwinden, um nach einigen Tagen wieder dort aufzutreten. Die Zahl der roten Blutkörperchen sinkt bei ihnen ebenfalls: so fanden wir (Frl. Tschernewskaja und ich), dass bei einem Meerschweinchen ihre Zahl von 6 878 000 vor der Infektion am 33. Tage nach der Infektion (einen Tag vor dem Tode) auf 4 832 000 gesunken war.

Einige Schwierigkeit bietet die Bestimmung des Zeitpunktes, wann Kaninchen mit dem Rougetschen Trypanosoma infiziert werden, da ihre Vermehrung im Blute nur schwach vor sich geht. Obgleich man die Parasiten im Blute nur selten zu sehen bekommt, dessen ungeachtet sind sie dort unzweifelhaft enthalten, denn es genügt eine geringe Menge solchen Blutes einem für Trypanosomen empfänglichen Tiere (weißen Mäusen, weißen oder grauen Ratten) einzuverleiben, um es zu infizieren.

Die Zahl der von uns angesteckten Hunde war nur gering. Der Zeitpunkt, wann die Trypanosomen im Blute erscheinen, hängt von der Quantität der einverleibten Infektionserreger und dem Infektionsmodus ab. So erschienen die Trypanosomen im Blute bei einem Hunde 3 Tage nach der subkutanen Injektion von 5 Tropfen Blut einer an Dourine erkrankten Maus; bei einem zweiten, dem wir nur sehr wenig Blut injiziert hatten (0,1 ccm folgender Lösung: 1 Tropfen Blut in 1 ccm Citratlösung), erschienen sie dort erst am 17. Tage; endlich bei einem dritten, in dessen Magen wir durch eine Sonde eine Emulsion von Organen einer an Dourine erkrankten Ratte eingeführt hatten, wurden die Trypanosomen nach 21 Tagen im Blute sichtbar. Ihre Zahl war ebenfalls schwankend; bald stieg, bald sank sie.

II.

Behandlungsversuche bei experimenteller Dourine der Mäuse.

A.

Unsere ersten Versuche waren auf die Heilung weißer Mäuse, bei denen die Trypanosomen schon im Blute anwesend waren, gerichtet.

Die mit dem Blute von dourinekranken Mäusen infizierten Tiere wurden am 1., 2., 3., 4. und 5. Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute mit Trypanrotinjektionen behandelt. Hierbei erhielten wir folgende Resultate:

Wurde die Behandlung mit Trypanrot am ersten Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute eingesetzt, so verschwanden sie entweder im Verlauf der ersten 24 Stunden (8 Tiere) oder zwischen 24 und 48 (7 Tiere) oder, selten, nach Ablauf von 24 Stunden (1 Tier) nach der Einspritzung des Farbstoffes.

Die Resultate sind ebenso befriedigend, wenn das Trypanrot erst am 2. Tage nach dem Eindringen der Parasiten ins Blut injiziert wird: sie verschwanden aus dem Blute entweder im Verlauf der ersten 24 (2 Tiere) oder zwischen 24 und 48 Stunden (9 Tiere) nach der Injektion.

Folgende Beobachtungen verdienen hierbei erwähnt zu werden: Zwei Mäuse wurden aus einer Quelle infiziert und doch verschwanden bei der einen die Trypanosomen aus dem Blute vor Ablauf der ersten 24 Stunden und bei der anderen viel später. Die Virulenz der Trypanosomen war in beiden Fällen identisch, und das Trypanrot wurde beiden in gleicher Quantität injiziert; dessenungeachtet war die Existenzdauer der Trypanosomen im Blute eine ganz verschiedene. Diese Beobachtung leitet uns auf den Gedanken, daß die Trypanrotwirkung auf die Trypanosomen in vivo nicht nur eine sozusagen ausschließlich mechanische, ihre Tötung herbeiführende, sondern eine viel kompliziertere ist; wir werden darauf unten zurückkommen.

Dieselben Resultate erlangten wir, als wir das Trypanrot am 3. Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute injizierten. Der Zeitpunkt ihres Verschwindens aus dem Blute blieb derselbe: Im Verlauf der ersten 24 Stunden (3 Fälle) und von der 24. bis zur 48. Stunde (8 Fälle) nach der Injektion.

Sobald aber das Trypanrot erst am 4. oder 5. Tage nach dem Eindringen der Parasiten ins Blut injiziert wurde, so verschwanden sie nach unseren Beobachtungen nicht früher als zwischen 24 und 48 Stunden. Unsere diesbezüglichen Experimente sind aber zu gering an Zahl, um über die Möglichkeit eines früheren Verschwindens etwas aussagen zu können.

Aus dieser kurzen Darlegung unserer Versuche kann man den Schluß ziehen, daß, je frühzeitiger die Trypanrotbehandlung eingesetzt wird, es um so sicherer bei Mäusen gelingt, die Dourinetrypanosomen möglichst schnell im Blute zum Verschwinden zu bringen. In allen Fällen also, wo die Rettung der angesteckten Mäuse angestrebt wird, tut man am besten, wenn man die Trypanrotinjektionen schon am 1. Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute beginnt: Man kann dann mit der größten Wahrscheinlichkeit erwarten, daß die Parasiten noch am selben Tage aus dem Blute verschwinden werden.

Welches ist nun die kürzeste Frist für das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blute?

Wir beobachteten sie bei einer Maus, der 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung am 3. Tage nach dem Eindringen der Parasiten ins Blut injiziert wurde: Die Injektion fand 4 Uhr nachmittags statt, und bei der nächsten, um 8 Uhr abends vollführten Untersuchung enthielt das Blut keine Trypanosomen mehr.

Die Behandlung geschah in unseren Versuchen mit verschiedenen Dosen von Trypanrot (0,5, 0,4 resp. 0,3 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung). Wir überzeugten uns, daß die Quantität auf die unmittelbaren Folgen keinen Einfluß ausübt. So verschwinden nach einer Injektion von 0,4 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung die Trypanosomen aus dem Blute entweder im Verlauf der ersten 24 Stunden oder zwischen 24 und 48 Stunden, d. h. zur selben Frist, wie nach einer Injektion von 0,5 ccm. Aber dafür hat 0,5 ccm Trypanrot sehr oft die vollkommene Genesung der Mäuse zur Folge, während bei den Tieren, denen wir 0,3 oder 0,4 ccm injizierten, stets Rezidive auftraten, zu deren Erörterung wir jetzt übergehen.

B.

Diese anscheinend so günstigen Resultate werfen natürlicherweise die Frage auf: Ruft das Trypanrot die endgültige Genesung der an Dourine erkrankten Mäuse hervor?

Und, als Folge dieser Frage, entsteht eine zweite: Genügt eine einmalige Injektion, um eine endgültige Genesung herbeizuführen?

Wir haben Mäuse beobachtet, bei denen infolge einer einmaligen Anwendung des Farbstoffes die Trypanosomen endgültig verschwanden. Wir unterwarfen sie einer ununterbrochenen Beobachtung 2 volle Monate hindurch, ohne daß irgendwelche Rezidive auftraten. Jedoch die Zahl der Mäuse, bei denen Rezidive auftraten, war fast um das doppelte größer.

Ob das Trypanrot am 1. oder 2. Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute injiziert wurde, übte gar keinen Einfluß auf das Auftreten oder Ausbleiben der Rezidive aus, da sie eben so oft im ersten, wie im zweiten Falle zu stande kamen. Dagegen waren sie konstant, sobald der Farbstoff erst am 3. Tage angewendet wurde. Wenn wir keine Rezidive bei den erst am 4. oder 5. Tage mit Trypanrot behandelten Mäusen zu verzeichnen hatten, so ist, scheint es uns, der Grund darin zu suchen, daß die diesbezüglichen Experimente sehr gering an Zahl waren: wir meinen, daß in diesen Fällen die Rezidive viel zahlreicher sein müssen.

Die Quantität des Farbstoffes ist ebenfalls ohne Bedeutung für die Rezidive; sie folgen ebenso auf Injektionen von 0,5 ccm einer 1-proz. Lösung, wie auf solche von 0,4 oder 0,3 ccm.

Die Zeit des Auftretens der Rezidive ist variabel: man beobachtet sie gewöhnlich 6—13 Tage nach der Injektion von Trypanrot. In zwei Fällen traten sie übrigens nach 3 resp. 5 Tagen auf.

Die Bekämpfung der Rezidive gelingt jedoch ebenso leicht, wie die des ersten Ausbruchs der Krankheit: eine nochmalige Injektion hat schon am nächsten Tage das Verschwinden der Trypanosomen zur Folge, und zwar fast konstant ihr endgültiges Verschwinden.

Wir wendeten zu dieser zweiten Injektion verschiedene Quantitäten Trypanrot an, und zwar 0,5, 0,4, 0,3 resp. 0,2 ccm. Hierbei überzeugten wir uns von der Entbehrlichkeit zu großer Quantitäten: die Dose von 0,3 oder höchstens von 0,4 ccm genügt in allen Fällen.

Kleinere Dosen nützen wenig. So injizierten wir einer rückfälligen Maus 0,2 ccm: die Trypanosomen verschwanden nicht, und als wir nach

3 Tagen weitere 0,5 ccm einspritzten, da war es schon zu spät: die Maus erlag am nächsten Tage. Einer zweiten Maus injizierten wir im Rezidiv 0,1 ccm, auch am nächsten Tage, als wir uns von der Anwesenheit der Trypanosomen im Blute überzeugten, nochmals 0,1 ccm: auch diese zweite Injektion blieb resultatlos; erst als wir zum dritten Male 0,3 ccm einspritzten, verschwanden die Trypanosomen endgültig.

Dem ersten Rückfalle folgte manchmal ein zweiter. Wir spritzten dann 0,5 ccm ein, und die Trypanosomen verschwanden endgültig.

In einem Falle jedoch versagte beim Rückfalle selbst eine einmalige hohe Dose, und wir sahen uns genötigt, eine nochmalige Einspritzung vorzunehmen. Dieser Maus wurde 0,5 ccm Trypanrot am 3. Tage nach dem Eindringen der Trypanosomen ins Blut eingespritzt: 4 Stunden nach dieser Injektion war das Blut frei von Parasiten. Als 9 Tage nach dieser Einspritzung die Krankheit rezidierte, spritzten wir ihr von neuem 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung ein. Da am 3. Tage darauf die Trypanosomen wieder im Blute beobachtet wurden, so injizierten wir ihr weitere 0,2 ccm: am nächsten Tage waren die Parasiten aus dem Blute verschwunden. Diese Maus blieb noch einen vollen Monat am Leben, worauf sie einer interkurrenten Krankheit erlag.

C.

Ferner suchten wir festzustellen, inwieweit mehrmaligen Trypanrotinjektionen eine vorbeugende Wirkung auf die Rezidive zukommt.

Zwei Fragen mußten hier gelöst werden: 1) Ueber die Intervalle zwischen den Einspritzungen; und 2) über die dazu nötigen Farbstoffdosen.

Um die erste Frage zu klären, wurde die Wiederholung 2, 3, 5, 6, 7 resp. 8 Tage nach der ersten Injektion unternommen. Um die zweite Frage zu lösen, injizierten wir 0,1, 0,2 resp. 0,3 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung.

Wir fanden, daß die Einführung von 0,1 resp. 0,2 ccm Trypanrot 3, 5, 6, 7 resp. 8 Tage nach der ersten Einspritzung das Auftreten der Rezidive nicht verhindern konnte.

Aus der nachfolgenden Tabelle ist ersichtlich, an welchem Tage nach der zweimaligen Injektion die Trypanosomen wieder im Blute erschienen waren:

Wie viel Tage nach der ersten Einspritzung wurde das Trypanrot nochmals injiziert?	Quantität der zum zweiten Male eingespritzten 1-proz. Trypanrotlösung	An welchem Tage nach der zweiten Einspritzung wurde das Wiederauftreten der Trypanosomen im Blute beobachtet?
3	0,15 ccm	4.
5	0,2 "	4.
5	0,3 "	6.
5	0,1 "	8.
6	0,1 "	7.
7	0,1 "	6.
8	0,1 "	2.
8	0,2 "	2.

Addieren wir die Ziffern der 1. und 3. Kolonne, so ersehen wir daß die Rückfälle 7, 9, 10, 11 resp. 13 Tage nach der ersten Einspritzung eingetreten sind.

Wenn keine nochmalige Injektion unternommen worden war, so erfolgten die Rezidive, wie wir oben gesehen haben, im Verlauf von 6 bis 13 Tagen.

Mit anderen Worten, die in den oben genannten Intervallen und zu den angegebenen Dosen wiederholten Einspritzungen haben nicht nur keine präventive Wirkung auf die Rückfälle ausgeübt, sondern haben sogar ihr Erscheinen nicht einmal aufgeschoben.

Die Gefahr eines Rückfalles ist selbst dann nicht aufgehoben, wenn eine dritte Injektion nach denselben Intervallen und mit denselben Dosen unternommen wird. So erhielt eine Maus, der eine zweite Einspritzung (0,1 ccm) 7 Tage nach der ersten gemacht worden war, 6 Tage später noch eine dritte Einspritzung (wieder 0,1 ccm): dessenungeachtet trat 3 Tage später ein Rückfall ein. Eine andere Maus erhielt eine zweite Einspritzung (0,2 ccm) 14 Tage nach der ersten und, nach weiteren 21 Tagen, eine dritte Einspritzung (0,1 ccm): Rückfall einen Tag darauf.

Zur Bekämpfung mehrmaliger Rückfälle muß man entweder eine einmalige hochdosierte (0,5 ccm) Einspritzung ausführen oder 2—3 kleinere Dosen (0,3—0,2 ccm) injizieren: die Trypanosomen verschwinden dann zwar aus dem Blute, aber die Tiere gehen bald darauf zu Grunde¹⁾.

Es gelingt jedoch, durch mehrmalige Trypanroteinspritzungen die Tiere ganz vor Rezidiven zu bewahren. Unsere Beobachtungen belehrten uns, daß, wenn die zweite Einspritzung (0,1 ccm) 2 oder selbst 3 Tage der ersten folgt und die dritte 3—4 Tage nachher mit 0,3, 0,2 resp. selbst 0,1 ccm gemacht wird, keine Rezidive auftreten.

Dabei ist es ohne irgendwelche Bedeutung, ob die erste Einspritzung am 1. oder 3. Tage nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute unternommen war. Freilich tut man besser, sie am 1. Tage auszuführen.

Wir ersehen also, daß durch mehrmalige (wenigstens 3-malige) Trypanroteinspritzungen man das Blut der infizierten Mäuse endgültig trypanosomenfrei machen kann.

Wir schlagen dafür folgendes Behandlungsschema vor:

- 1) Nachdem die Trypanosomen im Blute erschienen, spritzt man (am besten am 1. Tage) 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung ein;
- 2) 2 Tage darauf macht man eine zweite Einspritzung mit 0,1 bis 0,2 ccm derselben Lösung; und
- 3) 3 Tage nach der zweiten Einspritzung macht man eine dritte mit 0,2—0,3 ccm derselben Trypanrotlösung.

Unsere Beobachtungen überzeugten uns, daß dank diesem Behandlungsmodus die Mäuse sich endgültig der Dourinetrypanosomen entledigen.

D.

Die nächste Frage, deren Lösung wir anstrebten, war: Ob das Trypanrot während der Inkubationsperiode als Vorbeugemittel gegen die experimentelle Dourine dienen kann; also zu einer Zeit, da der Organismus bereits infiziert ist, die Trypanosomen aber noch nicht im Blute erschienen sind.

Um diese Frage zu lösen, infizierten wir Mäuse mit trypanosomenhaltigem Blute (sehr verdünnt, so daß bei den Kontrollmäusen die Parasiten erst am 10.—11. Tage im Blute erscheinen) und spritzten dann 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung ein, entweder gleichzeitig mit der Infektion oder am 2., 3., 4., 5., 9. resp. 11. Tage nach der Infektion.

Wir fanden, daß die gleichzeitig oder am 2., 3. resp. 5. Tage nach

1) Man erinnere sich, daß viele Experimentatoren die Aufmerksamkeit auf die heftige Wirkung des Trypanrotes auf die Nieren gerichtet haben: Das mehrmalige Einverleiben von großen Dosen dieses Farbstoffes kann also eine gefährliche Nephritis zur Folge haben.

der Infektion vorgenommene Trypanroteinspritzung das Erscheinen der Infektion verhindert.

In zwei, am 9. Tage nach der Infektion ausgeführten Trypanroteinspritzungen erhielten wir verschiedene Resultate: bei einer Maus fand man nachher keine Trypanosomen im Blute, während die andere Maus erkrankte, allerdings viel später als die Kontrolltiere (am 25. Tage).

Was die am 11. Tage nach der Infektion vorgenommene Trypanroteinspritzung anbelangt, so schützte sie nicht vor der Trypanosomose: in einem Falle wurde eine Maus am 24. und in einem anderen Falle am 12. Tage infiziert befunden.

Wenn man nun solchen Mäusen, bei denen die Infektion nicht zu stande gekommen war, in der Folge von neuem Trypanosomen einführt, so erkrankten sie ganz ebenso wie frische Tiere. Das hing zweifellos davon ab, daß das Trypanrot dann schon aus dem Kreislaufe ausgeschieden war, und die Mäuse wieder für die Infektion empfänglich geworden waren.

E.

Eine weitere, ebenso interessante Frage: Kommt dem Trypanrot irgendwelche prophylaktische Bedeutung zu?

Zu diesem Zweck spritzten wir Mäusen 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung ein, und an den folgenden Tagen infizierten wir sie, ebenso wie Kontrolltiere, mit trypanosomenhaltigem Blute.

Als Resultat erhielten wir:

Nur die gleichzeitig mit der Infektion vorgenommene Farbstoffinjektion schützt vor der Erkrankung. Dagegen verleiht sie keinen Schutz, wenn die Infektion auch nur um einen Tag später vorgenommen wird.

Die Wirkung des Trypanrotes besteht dann nur darin, daß die Trypanosomen später im Blute dieser Tiere erscheinen, als bei den Kontrolltieren.

Als wir z. B. die Infektionserreger am nächsten Tage nach der Trypanrotinjektion einverleibten, so erschienen die Trypanosomen im Blute dieser Maus erst am 5. Tage, während man sie im Blute eines Kontrolltieres schon vor dem 2. Tage fand.

Bei einer am 3. Tage infizierten Maus drangen die Trypanosomen erst am 6. Tage ins Blut, während es bei einem Kontrolltiere schon am 2. Tage geschah.

Bei einer anderen, am 4. Tage infizierten Maus beobachtete man die Parasiten im Blute erst 6 Tage später.

Endlich bei einer am 6. Tage infizierten Maus, erschienen die Trypanosomen im Blute erst nach weiteren 6 Tagen, während bei einem Kontrolltiere sie schon am 5. Tage anwesend waren.

Man sieht also, daß das Trypanrot eine kürzer dauernde Immunität gegen die Trypanosomen der Dourine, als gegen diejenigen der Nagana und des Mal de Caderas verleiht, wie aus den Versuchen von Ehrlich und Shiga hervorgeht. Nach diesen Autoren hielt die durch Trypanrot bei Mäusen gewonnene Immunität bis zum 2. Tage; vom 4. Tage an erschien sie nur noch höchst unbedeutend.

F.

Schützt die einmal überstandene und mit Trypanrot geheilte experimentelle Dourine vor einer neuen Erkrankung?

Auf Grund unserer Experimente müssen wir eine verneinende Antwort auf diese Frage geben.

Die durch rechtzeitige Trypanroteinspritzungen vor der Erkrankung geschützten, ebenso wie die von den schon im Blute vorhandenen Trypanosomen befreiten Mäuse erwiesen sich für eine erneute Infektion sehr empfänglich; die Inkubationsdauer war dabei entweder gar nicht oder nur unbedeutend verlängert.

G.

Unsere Experimente erlaubten uns endlich ein Urteil zu bilden, ob das Trypanrot im Tierorganismus auf die Virulenz der Trypanosomen einen Einfluß ausübt. Um die Virulenz abzuschätzen, hielten wir uns, dem Beispiele von Halberstädter¹⁾ folgend, an die Inkubationsdauer bei den frischen Mäusen, welche mit dem Blute solcher Mäuse infiziert wurden, die mit Trypanrot behandelt waren, aus deren Blute aber die Trypanosomen noch nicht verschwunden waren.

1) Wir fanden, daß, wenn man einer Trypanosomen enthaltenden Maus eine größere Quantität (0,5 ccm einer 1-proz. Lösung) Trypanrot injiziert und alsbald nach der Einspritzung mit dem Blute dieses Tieres eine frische Maus infiziert, bei dieser letzteren die Erkrankung ohne jede Verzögerung ausbricht.

2) Wenn man erst am 2. Tage (24—31 Stunden) nach Einspritzung derselben Quantität Trypanrot das Blut der so behandelten Maus zur Infektion einer frischen Maus benutzt, so wird bei dieser der Ausbruch der Erkrankung sehr verzögert (7—14 Tage).

3) Wenn sofort nach der Einspritzung einer kleinen Quantität (0,1 ccm) derselben Trypanrotlösung mit dem Blute der so behandelten Maus eine frische Maus infiziert wird, so beobachtet man, wie zu erwarten war, keine Verlängerung der Inkubationsdauer (4—5 Tage).

4) Wenn jedoch mit dem Blute derselben Maus erst 2 Tage nach Einverleiben des Farbstoffes eine andere frische Maus infiziert wird, so wird der Ausbruch der Krankheit hinausgeschoben, obgleich weniger als im Falle 2 (der Ausbruch findet einen Tag später als im Falle 3 statt).

Unsere Experimente geben mit denjenigen von Halberstädter analoge Resultate, aber die Inkubationsdauerverlängerung war bei unseren Mäusen nicht so bedeutend, wie bei denen des soeben genannten Untersuchers (sie erreichte dort 4 Wochen).

III.

Behandlung der experimentellen Dourine bei anderen Tieren.

A. Graue Ratten.

Wir haben die Trypanrotbehandlung bei 3 grauen Ratten versucht.

Es erwies sich, daß das einmalige Einverleiben von sogar 0,53 g Trypanrot pro 1 kg Körpergewicht nicht im stande war, den Organismus dieser Tiere endgültig von den Trypanosomen zu befreien. Bei der Ratte, der wir die soeben genannte Quantität Farbstoff injiziert hatten, verschwanden die Trypanosomen aus dem Blute 2 Tage nach der Injektion und blieben während 19 Tagen abwesend, aber nachher erschienen sie wieder. Die alsdann 2mal (am Tage des Wiedererscheinens und nachher 4 Tage später) mit halb so großen Dosen Farbstoff wiederholten Einspritzungen hatten ebenfalls das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blute zur Folge; das Tier erlag zwar 12 Tage später, aber das Blut blieb bis zuletzt trypanosomenfrei.

1) Halberstädter, Untersuchungen bei experimentellen Trypanosomenkrankungen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. 1905.)

Eine kleinere Dose (0,29 g pro 1 kg Körpergewicht) war selbstverständlich noch weniger im stande, sofort das Blut von den Trypanosomen zu befreien; und als es endlich gelang, so war es nur für kurze Zeit: nach 7 Tagen waren die Parasiten wieder im Blute anwesend. Außerdem erwiesen sich die darauf mit halb so großen Dosen fortgesetzten Einspritzungen als unzulänglich: die Trypanosomen beharrten im Blute und das Tier erlag.

Durch kleine (0,11—0,25 g pro 1 kg Körpergewicht), aber wiederholte Gaben von Trypanrot gelang es auch die Trypanosomen aus dem Blute für einige Zeit zu verjagen, aber früher oder später erschienen sie dort wieder. Endlich waren sie freilich ganz und gar verschwunden, aber das Tier erlag dennoch, wahrscheinlich an Intoxikation.

B. Meerschweinchen.

Die Versuche, Meerschweinchen mit Trypanrot zu behandeln, schlagen fehl, da diese Tiere sehr empfindlich für diesen Farbstoff sind. Die Trypanosomen werden zwar getötet, aber die Tiere selbst gehen an der Vergiftung zu Grunde¹⁾.

Wir begannen mit Dosen von 0,29—0,277—0,27 g pro 1 kg Körpergewicht; dieselben erwiesen sich jedoch als letal.

Selbst kleinere Dosen (0,14 g pro 1 kg Körpergewicht) wirken verderblich auf diese Tiere.

Durch Einverleiben von kleinen (0,15 g pro 1 kg Körpergewicht), aber schnell nacheinander wiederholten Dosen gelingt es zwar, das Blut auf einige Zeit trypanosomenfrei zu machen; die Tiere gehen aber doch zu Grunde.

Wir modifizierten darauf den Einverleibungsmodus des Farbstoffes: Wir gaben ihn in kleinen (0,21—0,13—0,14 g pro 1 kg Körpergewicht), in längeren Intervallen wiederholten Dosen: die Trypanosomen verschwanden aus dem Blute endgültig, das Tier erlag jedoch der toxischen Wirkung des Trypanrotes.

Die Trypanroteinspritzungen waren in allen diesen Experimenten mehr oder weniger lange nach dem Erscheinen der Trypanosomen im Blute (am 1., 6., 16. resp. 23. Tage) unternommen worden. Die Trypanosomen verschwinden in allen Fällen aus dem Blute, gleichviel wann der Farbstoff eingeführt wird.

Wir haben auch versucht, ein Meerschweinchen mit Trypanrot gegen die Dourinetrypanosomen zu schützen; aber unsere Mühe blieb resultatlos: ungeachtet der gleichzeitigen Einführung des Farbstoffes (0,14 g pro 1 kg Körpergewicht) und der Infektionserreger brach doch die Erkrankung beim Tiere aus; freilich später (am 15. Tage) als beim Kontrolltiere (am 5. Tage).

C. Kaninchen.

Einem Kaninchen spritzten wir unter die Bauchhaut zunächst 50 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung (= 0,5 g Farbstoff oder 0,3 g pro 1 kg Körpergewicht) und zwar 17 Tage nach der Infektion.

Mäuse, die mit dem Blute dieses Kaninchens 7, 10 resp. 14 Tage nach Einverleiben des Trypanrotes infiziert wurden, zeigten keine Trypanosomen im Blute. Eine Maus dagegen, der das Kaninchenblut nach 28 Tagen injiziert wurde, erkrankte nach weiteren 8 Tagen.

An demselben Tage, als die Trypanosomen im Blute dieser Maus

1) Die höchste Dose für diese Tiere bei einem Körpergewicht von 400—500 g soll nach Laveran nie 0,015 g übersteigen.

erschienen waren, injizierten wir dem Kaninchen nochmals 10 ccm einer 2-proz. Trypanrotlösung (= 0,2 g Farbstoff oder 0,124 g pro 1 kg Körpergewicht) und 2 Tage später wieder 15 ccm derselben Lösung (0,3 g Trypanrot).

Die 21 Tage nach der 3. Einspritzung mit dem Blute dieses Kaninchens inokulierte Maus erkrankte überhaupt nicht.

Wir betrachten dieses Kaninchen als endgültig genesen.

D. Hunde.

Ein Hund wurde von uns mit Trypanrot behandelt. Die Behandlung ergab keine guten Resultate; aber man muß berücksichtigen, daß sie zu spät begonnen wurde (28 Tage nach der Infektion), als schon das ganze komplizierte Krankheitsbild in die Erscheinung getreten war. nämlich Augenerkrankung, Albuminurie (Nephritis), Oedeme, starke Abmagerung und allgemeine Schwäche.

Als wir dem Hunde kleine Dosen (0,07 resp. 0,15 g) im Anfange der Behandlung gaben, wurden die Trypanosomen nur um wenig an Zahl vermindert; als die einverleibten Dosen erhöht wurden (0,4 resp. 0,88 g pro die), so verschwanden die Trypanosomen zwar aus dem allgemeinen Kreisläufe, aber sie verblieben doch im Organismus: Eine mehrtägige Unterbrechung der Behandlung hatte das Wiedererscheinen der Parasiten im Blute zur Folge. Die Organläsionen waren außerdem so stark ausgesprochen, daß der Hund schließlich der Krankheit erlag.

Alles in allem wurden dem Hunde während der 17-tägigen Behandlungsdauer 4,70 g Trypanrot einverleibt.

Wir haben keine weiteren Versuche nach dieser Methode beim Hunde unternommen, da wir zur Laveranschen Behandlungsmethode (Arsenik und Trypanrot kombiniert) übergingen, die uns beachtenswerter erschien. Wir erhielten tatsächlich so gute Resultate, daß sie uns bewogen haben, diese Behandlungsmethode bei an spontaner Beschälseuche erkrankten Pferden zu versuchen.

IV.

Ueber die Nebenwirkungen des Trypanrotes.

Bei Besprechung der therapeutischen Wirkungen des Trypanrotes können wir nicht umhin, auch einige seiner Nebenwirkungen zu berühren, die wir im Laufe der Behandlungsversuche mit diesem Farbstoffe beobachtet haben.

Wenden wir uns zunächst zu dem Einführungsmodus des Trypanrotes und dessen Folgen.

Wir injizierten es den Mäusen und Ratten subkutan in einer 1-proz. Lösung. Diese Art der Applikation ruft bei diesen Tieren keine unerwünschten Folgen hervor, und das Trypanrot wird gut im Unterhautzellgewebe resorbiert.

Ganz anders steht es um die Meerschweinchen, Kaninchen und Hunde. Bei allen diesen Tieren haben die subkutanen Farbstoffinjektionen die Entzündung des Unterhautzellgewebes, die Bildung von Abscessen mit flüssigem Inhalt und Unterhautzellgewebsnekrose an der Injektionsstelle zur Folge. Als schon ein Teil unserer Arbeit zu Ende geführt war, wurde uns der Vorschlag von Laveran, das Trypanrot nicht subkutan, sondern intramuskulär einzuspritzen, bekannt. Wir wendeten diese Methode bei den Hunden an, die wir kombiniert mit Arsenik und Trypanrot behandelten, ebenso wie bei den von uns behandelten Pferden. die an spontaner Beschälseuche erkrankt waren. Die intramuskulären Injektionen rufen keine entzündlichen Erscheinungen hervor.

Einige Untersucher haben außerdem behauptet, das Trypanrot zerstöre die roten Blutkörperchen. Wir gehen hier nicht näher auf diese Frage ein, da unsere diesbezüglichen Untersuchungen noch im Gange sind. Eins müssen wir aber schon jetzt sagen: Wir sind noch außerstande, diese Behauptung zu bestätigen. Unsere zwar noch an Zahl geringen Daten beweisen, daß, wenn die roten Blutkörperchen überhaupt vom Trypanrot zerstört werden, ihre Abnahme jedenfalls zu keinen ernststen Befürchtungen Veranlassung gibt, solange das Trypanrot in therapeutischen Dosen angewendet wird.

Von den gemeinsam mit Frau Nina Kohl gewonnenen Beobachtungsergebnissen seien die beiden folgenden angeführt:

Maus No. 1		Rote Blutkörperchen		Gewicht
23. Februar	1906	7 322 000	0,5 ccm einer	19,0
24. „	1906	7 192 000	1-proz. Trypan-	20,0
25. „	1906	6 432 000	rotlösung	
27. „	1906	6 004 000	injiziert	
1. März	1906	6 772 000		20,5
3. „	1906	6 640 000		21,5
8. „	1906	6 568 000		22,5
15. „	1906	7 184 000		
Maus No. 2				
25. Mai	1906	11 408 000	0,5 ccm einer	
26. „	1906	10 792 000	1-proz. Trypan-	
27. „	1906	10 004 000	rotlösung	
28. „	1906	11 688 000	injiziert	
29. „	1906	11 384 000		
1. Juni	1906	10 000 000		
2. „	1906	11 032 000		

Aus diesen Beispielen ist ersichtlich, daß die Zahl der roten Blutkörperchen zwar tatsächlich nach einmaliger Einspritzung einer therapeutischen Dosis Trypanrot etwas sinkt, darauf jedoch sehr schnell Regeneration derselben eintritt; und bei einer Maus, deren Körpergewicht wir mehrmals bestimmt haben, fanden wir sogar eine Gewichtszunahme.

Es liegt also kaum ein Grund vor, eine schädliche Wirkung des Trypanrotes auf die roten Blutkörperchen zu befürchten; sie kann jedenfalls keinen Vergleich mit der schädigenden Wirkung der Trypanosomen auf diese Blutgebilde aushalten [Yakimoff¹⁾].

Sehen wir uns genauer die Krankheitsgeschichte unseres Hundes an, und unsere Thesis findet in ihr Bestätigung.

In der Tat, sobald die Infektionserreger in den Organismus des Hundes eingeführt waren, begann die Zahl der roten Blutkörperchen zu sinken: von 6 960 000 pro 1 cmm (Durchschnittszahl vor der Infektion) sanken sie auf 3 552 000 am 27. Tage nach der Infektion, d. h. am Tage, als mit der Behandlung eingesetzt wurde.

Diese Abnahme der Erythrocyten fand mit einigen Schwankungen statt in Abhängigkeit von der mehr oder weniger bedeutenden Zahl der im Blute anwesenden Trypanosomen. Im Momente, als wir die Behandlung begannen, fand man keine Parasiten im Blute, aber sie erschienen dort wieder am nächsten Tage. Da das Trypanrot im Anfange in kleinen Dosen (0,07 resp. 0,15) dargereicht wurde, so konnte es keinen Einfluß auf die Trypanosomen ausüben, und folglich auch nicht

1) Yakimoff, W. L., Ueber die Blutveränderungen bei experimentellen Trypanosomen. [Vorl. Mitteilung.] [Russisch.] (Vestnik obshchestvennoi Veterinari. 1905. No. 24. Arch. des sciences biologiques. 1907. Heft 3. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXVIII. 1906.)

die Abnahme der Blutkörperchen verhindern. Darauf aber verschwanden unter dem Einfluß erhöhter Dosen (0,52 resp. 0,4) Trypanrot die Trypanosomen so andauernd aus dem Blute, daß dieser Effekt zweifellos als Heilwirkung des Trypanrotes anzusprechen ist. Während dieser Periode ließen die roten Blutkörperchen eine evidente Tendenz zur Zunahme hervortreten. Gegen die nachher wieder erschienenen Trypanosomen erwiesen sich die wiederholten Einspritzungen wirkungslos. Aber alles in allem war die Zahl der roten Blutkörperchen in 1 cmm selbst beim Tode des Tieres um fast 1 Million höher als beim Beginn der Trypanrotbehandlung.

Die Ursache ist ganz verständlich:

Die Trypanosomen üben eine hemmende Wirkung auf die Regeneration der roten Blutkörperchen aus (Schilling, Yakimoff). Da das Trypanrot auf irgend welche Art die Trypanosomen abtötet, so müssen die von diesem hemmenden Einflusse befreiten blutbildenden Organe in habitueller oder wenigstens fast habitueller Weise die roten Blutkörperchen zu regenerieren beginnen.

V.

Wirkungsweise des Trypanrotes auf die Trypanosomen.

Wie wirkt das Trypanrot auf die Trypanosomen?

Nach den Untersuchungen von Ehrlich und Shiga ebenso von Laveran und Mesnil übt das Trypanrot keine unmittelbare Wirkung auf die Trypanosomen aus. Selbst wenn 0,5 resp. 1 Proz. der Farbstofflösung hinzugefügt ist, werden in vitro die Trypanosomen im Laufe von 2—3 Stunden nicht abgetötet. Im lebenden Organismus entfaltet aber das Trypanrot seine Wirkung in besonderer Weise.

Ehrlich und Shiga untersuchten die Dauer der Schutzwirkung dieses Farbstoffes. Die Immunität war nur bis zum 2. Tage nach der Einspritzung stark ausgeprägt; vom 4. Tage an war sie sehr unbedeutend.

Das hängt davon ab, daß, wie die Untersuchung des Harnes beweist, das Trypanrot nur während der ersten Tage im allgemeinen Kreislaufe zirkuliert, später aber fest in den Geweben fixiert wird. Diese Forscher meinen, daß das Trypanrot im Organismus eine Reaktion hervorruft, während welcher antiparasitäre Stoffe sich entwickeln. Die Wirkung dieser Stoffe ist jedoch nur von kurzer Dauer, da nur das frisch eingelebte Trypanrot im Tierkörper eine den Tod der Trypanosomen herbeiführende Reaktion auszulösen im stande ist. Sobald aber der Farbstoff in den Organen sich abzulagern beginnt, hört die Bildung dieser antiparasitären Stoffe auf: daher die Flüchtigkeit seiner Wirkung.

Unsere oben (Kap. II) beschriebenen Experimente bestätigen diese Hypothese. Nur die gleichzeitige Injektion von Trypanrot und Virus bietet dem Tiere einen unbedingten Schutz vor der Infektion. Die vom Trypanrot verliehene Immunität ist schon am nächsten Tage nach der Injektion keine vollkommene; die Infektion bricht zwar mit einiger Verzögerung aus, aber sie bricht doch aus. Die Immunitätserscheinungen sind am 3. und 4. Tage noch schwächer ausgeprägt, und je größer der Intervall zwischen der Farbstoffinjektion und der Infektion ist, desto zuversichtlicher kann man auf den Ausbruch der letzteren rechnen: Die Fixation des Trypanrotes in den Organen nimmt fortwährend zu, seine reaktionelle Wirkung auf den Organismus wird immer schwächer und die Immunität verschwindet ganz und gar.

Auf dieselbe Weise können auch diejenigen unserer Experimente (Kap. II, G) erklärt werden, welche die Wirkung des Trypanrotes auf die Trypanosomen behandeln.

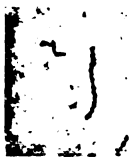


Fig. 1.



Fig. 2.

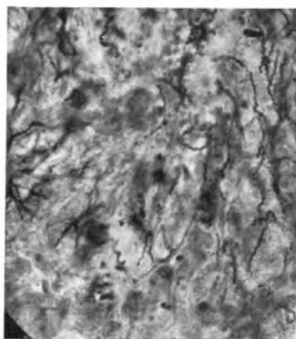


Fig. 4.



Fig. 3.



Fig. 6.



Fig. 5.

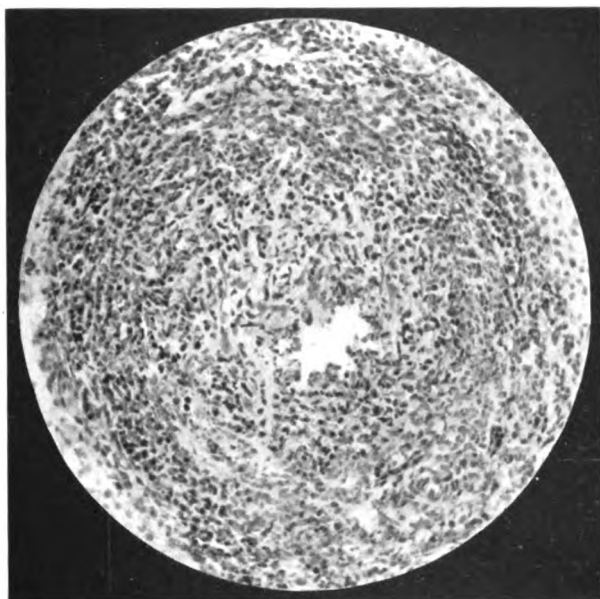


Fig. 7.

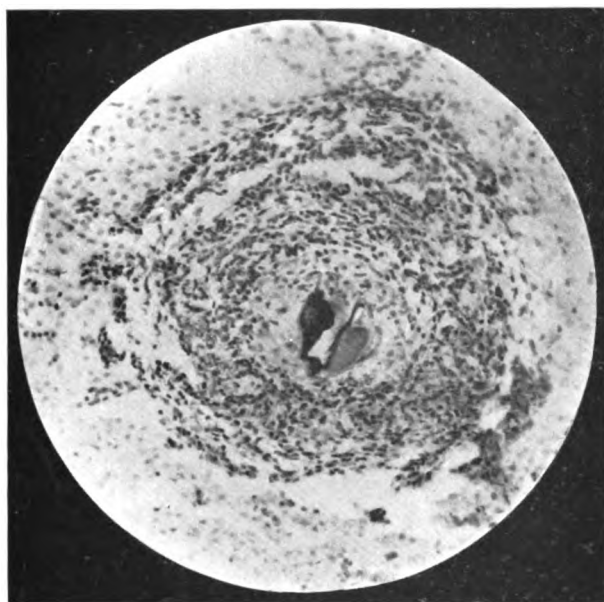


Fig. 8.

100

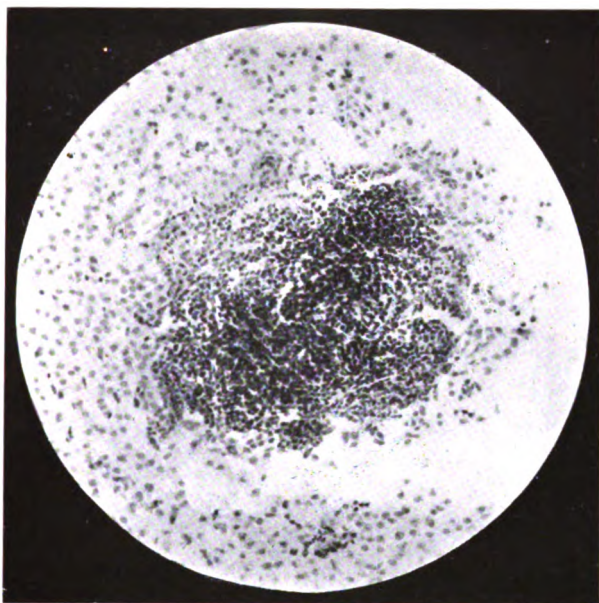


Fig. 9.

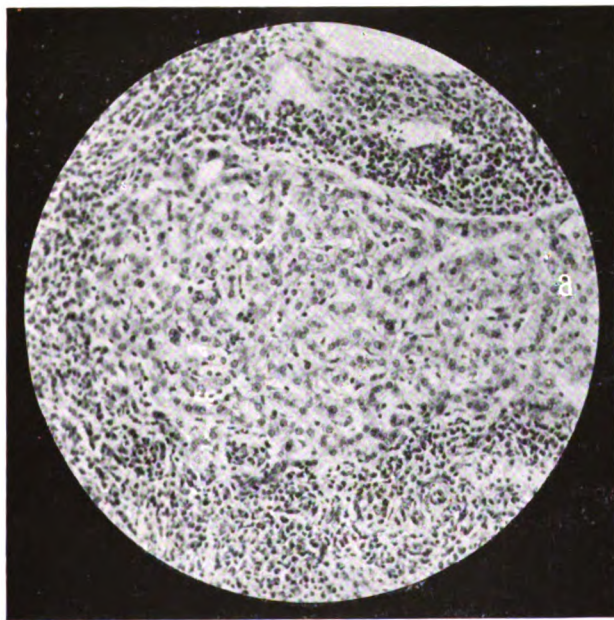


Fig. 10.

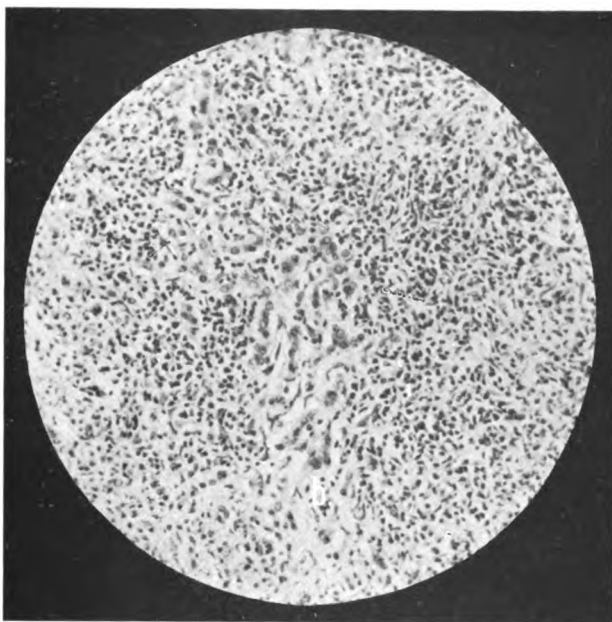


Fig. 11.

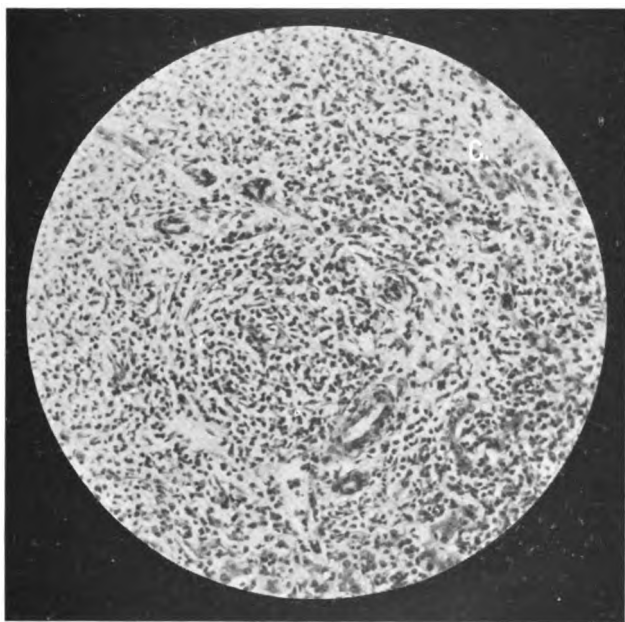


Fig. 12.

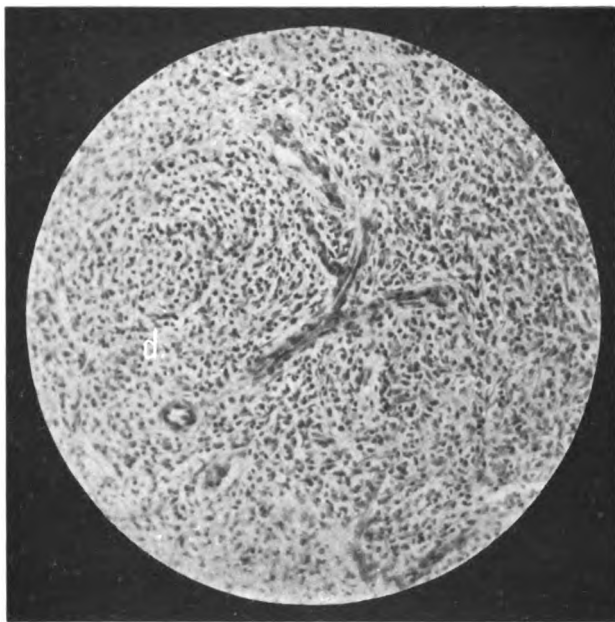


Fig. 13.

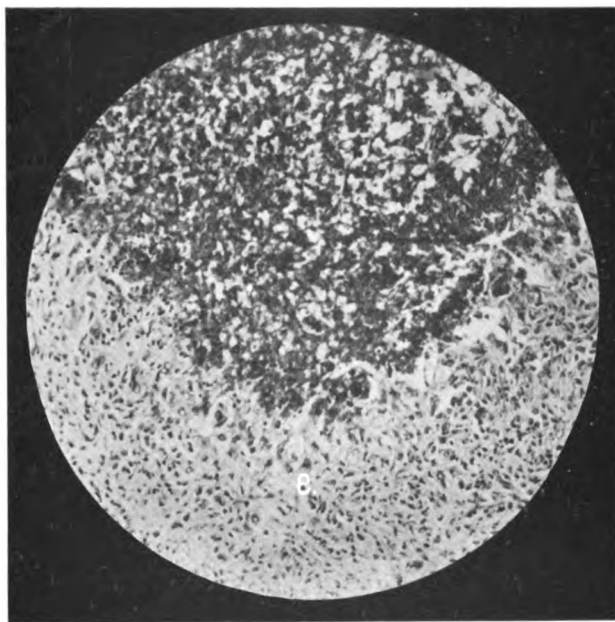


Fig. 14.

Die dort beschriebenen Verzögerungen könnten auf den ersten Blick darin ihre Erklärung finden, daß in den Fällen 2 und 4 die Trypanosomen weniger zahlreich in den Organismus eingedrungen wären als in den Fällen 1 und 3. Die Schnelligkeit des Infektionsausbruches ist, wie unsere Experimente sowie diejenigen vieler anderer Forscher beweisen, direkt proportional der Zahl der Trypanosomen: Darum verlängert sich bei den frischen Tieren die Inkubationszeit. Es ist ganz ausgeschlossen, daß man es hier mit einer unmittelbar hemmenden Wirkung des Trypanrotes (wie etwa bei den Tieren, von denen im Kap. II, D die Rede war) zu tun habe: Im allergünstigsten Falle gerät in den Organismus des frischen Tieres das Trypanrot in so minimaler Quantität, daß es die Verzögerung des Krankheitsausbruches durchaus nicht zu erklären im stande ist.

Die einzige mögliche Erklärung dieser Erscheinung gibt die soeben angeführte Hypothese von Ehrlich und Shiga, die wir im gegebenen Falle folgendermaßen verstehen: Unter dem Einflusse des Trypanrotes wird im Organismus eine Reaktion ausgelöst, die den letzteren veranlaßt, gewisse Stoffe zu bilden, deren Wirkung auf die Trypanosomen sich darin äußert, daß ein Teil von ihnen abgetötet und ein anderer Teil vorübergehend weniger lebensfähig gemacht wird. Die Vermehrung der letzteren geht langsamer von statten. Dringen aber diese Trypanosomen in ein frisches Tier ein, so erholen sie sich dort nur allmählich und sie beginnen viel später sich zu vermehren als diejenigen, die der Wirkung des Trypanrotes nicht ausgesetzt waren.

Wie oben erwähnt, bewiesen dieselben Forscher, daß die Immunität stabiler ist bei den mit Trypanrot geheilten als bei den präventiv mit diesem Farbstoffe behandelten Mäusen. Sie erklären diesen Unterschied durch das Zustandekommen im ersten Falle einer aktiven Immunität: Die vom Trypanrot abgetöteten Trypanosomen geben Anstoß zur Bildung von Immunsubstanzen (Ambozeptoren) und anderer Reaktionsprodukte. Jedoch ist die Dauer dieser Immunität eine beschränkte; die Bildung der Immunsubstanzen sistiert, die schon gebildeten werden aus dem Blutkreislaufe ausgeschieden, und das Tier wird wieder für die Infektion empfänglich.

Das Ausbrechen der Rezidive findet bei Ehrlich und Shiga dieselbe Erklärung. Die Trypanosomen sind außer stande, sich zu vermehren, solange die, dank der Resorption der Hauptmasse von Trypanosomen hervorgerufene aktive Immunität anhält: Während der ganzen Dauer der letzteren verharren sie im Keimzustande und erst nach ihrem Abklingen gewinnen sie ihre Pathogenität wieder.

Um das Wesen der Wirkung des Trypanrotes auf die Trypanosomen zu studieren, haben wir einer Maus, in deren Blute die Trypanosomen schon 2 Tage sichtbar waren, 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung injiziert und ihr Blut in verschiedenen Zeiträumen nach der Einspritzung untersucht: Nach 1½ Stunden, nach 3 Stunden 25 Minuten, nach 7 Stunden 50 Minuten, nach 9 Stunden 50 Minuten, nach 19 Stunden 50 Minuten, nach 28 Stunden 50 Minuten und nach 45 Stunden 50 Minuten. Mit Ausnahme der letzten Probe enthielten sie alle Trypanosomen. Die Bewegungen der Trypanosomen waren noch sehr energisch in dem nach 7 Stunden 50 Minuten entnommenen Blute, und es waren auch keine morphologischen Veränderungen zu erkennen. Aber je später die Blutentnahme stattfand, desto träger gestalteten sich die Bewegungen und die Zahl der Parasiten verminderte sich. Auf den nach Giemsa und nach Marino gefärbten Präparaten beobachtete man, je näher die Blut-

entnahme der Farbstoffeinspritzung stattgefunden hatte, Trypanosomen verschiedenen Alters; je später sie geschah, desto geringer wurde die Zahl der ausgewachsenen Individuen. Die trypanozide Wirkung des Trypanrotes kommt wahrscheinlich zuerst an den ausgewachsenen und später erst an den jungen Individuen zur Geltung. Auf keinem unserer Präparate sahen wir irgend welche Trümmer oder sonstige Reste der Parasiten: Es ist daher anzunehmen, daß die untergehenden Trypanosomen vollkommen in dem umgebenden Medium aufgelöst werden.

Mit einem Worte, wir haben es hier mit einem Prozesse, den wir Trypanolyse benennen können, zu tun. Um ihn zu erklären, müssen wir auf den von Ehrlich und Shiga gegebenen Mechanismus der Trypanrotwirkung rekurren.

Schlüsse.

Am Ende unserer Arbeit angelangt, erlauben wir uns, dieselbe folgendermaßen zu resumieren:

1) Das Trypanrot ist ein spezifisches Mittel gegen die durch das Trypanosoma Rouget erzeugte experimentelle Dourine.

2) Die Einverleibung von 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung hat bei Mäusen das Verschwinden der Trypanosomen aus dem Blute zur Folge, selbst wenn die Injektion des Farbstoffes nach 5-tägiger Anwesenheit dieser Parasiten im Blute stattgehabt hat. Je früher das Trypanrot eingespritzt wird, desto schneller verschwinden die Trypanosomen aus dem Blute. Der späteste Termin für ihr Verschwinden sind 3 Tage nach der Farbstoffinjektion. Die Einverleibung von kleineren Dosen Farbstoff hat zwar ebenfalls das Verschwinden der Parasiten aus dem Blute zur Folge, aber es treten dann späterhin Rezidive auf.

3) Um jeglichen Rezidiven vorzubeugen und die infizierten Mäuse endgültig herzustellen, muß man auf die erste Einspritzung in kurzen Intervallen mehrere neue Injektionen mit kleinen Dosen folgen lassen. Das Behandlungsschema wird sich demnach ausnehmen: 1. Injektion 0,5 ccm einer 1-proz. Trypanrotlösung; 2. Injektion (2 Tage nach der 1.) 0,1—0,2 ccm, und 3. Injektion (3 Tage nach der 2.) 0,2 bis 0,3 ccm derselben Farbstofflösung.

4) Die prophylaktische Wirkung des Trypanrotes ist äußerst beschränkt.

5) Das an den ersten 5—9 Tagen nach dem Einverleiben der Infektionserreger injizierte Trypanrot kann Mäuse vor der Erkrankung schützen. Nach Ablauf dieser Frist übt das Trypanrot keinen hemmenden Einfluß mehr auf den Ausbruch der Krankheit aus.

6) Die mit Trypanrot geheilten Tiere sind nicht gegen eine erneute Infektion immunisiert.

7) Durch wiederholte Injektionen von Trypanrot in therapeutischen Dosen kann man die endgültige Heilung von Mäusen und Ratten erzielen.

8) Das Trypanrot wirkt toxisch auf Meerschweinchen.

9) Von Mäusen und grauen Ratten werden subkutane Injektionen von Trypanrotlösungen gut vertragen, während sie bei Meerschweinchen, Kaninchen und Hunden Entzündung des Unterhautzellgewebes zur Folge haben: Man tut gut, diesen Tieren den Farbstoff intramuskulär einzuverleiben.

10) Um die Wirkungsweise des Trypanrotes auf die Trypanosomen zu erklären, muß man die biochemische Theorie Ehrlich-Shigas heranziehen.

Nachdruck verboten.

Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren).

Von Dipl.-Ing. Dr. Adolf Reitz, Stuttgart.

(Schluß.)

D. Versuche mit *Bacterium prodigiosum*.

Diese Art war von mir aus Butter isoliert worden, und zeigte auf Glycerinagar üppiges Wachstum mit Bildung des typischen roten Farbstoffes.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceins auf *Bacterium prodigiosum*.

An Stelle des 37-gradigen Brutschranks trat der 25-gradige.

Konzentration	Makroskopischer Befund	
1:100	Kein Wachstum	
1:1000	Spärliches Wachstum	
1:2000	Mäßig gutes Wachstum	
1:5000	Gutes Wachstum	
1:10 000	"	"
1:60 000	"	"
1:100 000	"	"
1:500 000	"	"
1:1 000 000	"	"

Die Einwirkung des Fluoresceins war auf *Bacterium prodigiosum* eine intensivere als z. B. auf *Sarcina flava*.

2. Prüfung im Hellen.

Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Sehr spärliches Wachstum	Spärliches Wachstum
1:2000	Spärliches Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:5000	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:10 000	" "	" "
1:60 000	" "	" "
1:100 000	" "	" "
1:1 000 000	" "	" "

Auf den Kontrollplatten war nach 24-stündiger Exposition immer noch gutes Wachstum zu erzielen.

Die photodynamische Wirkung war unverkennbar, jedoch auch bei *Bact. prodigiosum* sehr schwach.

Die Benützung von Gelatine und Nährbouillon änderte an dem Ausfall der Versuche nichts.

Dauer der Exposition 48 Stunden		
Verdünnungen	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Spärliches Wachstum	Spärliches Wachstum
1:2000	" "	Mäßig gutes "

In den übrigen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied des Wachstums bemerken.

Die Wirkung des diffusen Tageslichts auf die 48 Stunden lang exponierten ungefärbten Kontrollplatten war äußerst gering. Sonnenlicht bewirkte Abtötung nach 16 Stunden langer Belichtung.

Eine Strahlenwirkung bei Vorschaltung eines Filters, bestehend aus einer Lösung von Fluorescein, konnte nicht beobachtet werden.

E. Versuche mit *Micrococcus rosaceus*.

Derselbe war ebenfalls aus Stuttgarter Marktbutter von mir isoliert worden.

Die Versuche wurden in derselben Weise wie bei den übrigen Bakterienarten ausgeführt.

Die photodynamische Wirkung war auch auf *Micrococcus rosaceus* sehr gering und deckt sich etwa mit der bei *Sarcina lutea* (flava).

Die Versuche im Hellen und Dunkeln auf Agarplatten ergaben folgendes:

Verdünnungen	Dauer der Exposition 48 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Spärliches Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Gutes „	Gutes Wachstum

In den übrigen Verdünnungen ließen sich unter den exponierten und nichtexponierten Platten keine Wachstumsunterschiede konstatieren.

Die Benützung von Bouillon und Gelatine als Nährmedien bewirkte keine Aenderung des Resultates.

F. Versuche mit *Micrococcus sulfureus*.

Dieser Mikroorganismus war von mir aus der Stuttgarter Butter isoliert worden.

Er zeigte sich gegenüber dem Fluorescein sehr resistent und scheint damit eine Eigenschaft zu haben, die allen Sarcinen und Kokken zukommt. Offenbar ist es die dicke Membran dieser Mikroorganismen, die eine Aufnahme des Fluoresceins verhindert und so den Einfluß des Farbstoffs ausschaltet.

Die photodynamische Wirkung war dieselbe wie auf *Sarcina lutea* und *Micrococcus rosaceus*.

G. Versuche mit *Actinomyces*.

Diese Art ist von mir aus der Stuttgarter Butter isoliert worden und kommt sehr häufig auch als eine Verunreinigung von Platten vor. Bei Luftuntersuchungen in Stuttgart konnte ich diese Art fast in jeder Platte erkennen.

Verdünnungen	Exposition 3 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Wenig Wachstum	Wenig Wachstum
1:1000	Gutes „	Gutes „

In den anderen Platten konnte kein Unterschied unter den exponierten und nichtexponierten Platten wahrgenommen werden.

Eine photodynamische Wirkung war selbst bei 3-tägiger Exposition demnach nicht zu konstatieren. Wiederum wird es die derbe Hülle von *Actinomyces* sein, die an diesem Ausfall schuld ist.

Die *Actinomyces*-Art, die ich zu meinen Untersuchungen benützte, war übrigens auch gegen Sonnenlicht sehr resistent. Selbst nach 100-stündiger Besonnung gelang es mir immer noch lebensfähige Kulturen aus dem belichteten Präparat zu erhalten.

H. Versuche mit *Saccharomyces rosaceus*.

Dieser Mikroorganismus war von mir aus Stuttgarter Butter isoliert worden.

Auch auf diesen war die photodynamische Wirkung so schwach, daß sie nach 3-tägiger Belichtung in diffusem Tageslicht noch nicht beobachtet werden konnte.

Bei Belichtung im Sonnenlicht starb diese Art in 30 Stunden.

2. Versuche mit Fluoresceinanilid.

Die Herstellung dieses Körpers wurde von mir auf folgende Weise ausgeführt: 20 g Fluorescein, 80 g frisch destilliertes Anilin und 40 g salzsaures Anilin wurden etwa 7 Stunden am Rückflußkühler gekocht. Die violett-rötliche Masse wurde sodann zur Abtreibung des Anilins einer Wasserdampfdestillation unterworfen. Der zurückbleibende feste Teil wurde aus heißem verdünntem Alkohol umzukristallisieren versucht. Es konnten jedoch auf diese Weise keine wasserhellen Kristalle erhalten werden. Der verunreinigende rote Farbstoff konnte erst durch mehrfaches Kochen mit sehr viel Tierkohle teilweise entfernt werden. Es wurde aus diesem Grunde der Versuch gemacht, durch Auflösen des unreinen Fluoresceinanilids in sehr verdünnter Natronlauge, Kochen mit Tierkohle, Zusatz von verdünnter Salzsäure und Umkristallisieren in verdünntem Alkohol ein reines Präparat zu erhalten.

Da über die Verunreinigung durch den roten Farbstoff nichts in den kurzen Angaben von O. Fischer und E. Hepp (60) „Ueber Fluoresceinanilid“ enthalten war, so konnte dieselbe von dem salzsauren Anilin herrühren, das zu dem Versuch verwendet worden war. Es wurde zu den weiteren Versuchen das salzsaure Anilin in reinem Zustand nach folgender Methode hergestellt:

Konzentrierte Salzsäure wurde unter Umrühren mit Anilin versetzt, die abgeschiedenen Kristalle abgesaugt und auf dem Tonteller getrocknet. Auf diese Weise wurden 50 g salzsaures Anilin hergestellt, die zur Herstellung weiterer Mengen Fluoresceinanilids benützt wurden.

25 g Fluorescein, 100 g Anilin, 50 g salzsaures Anilin wurden wie oben 7 Stunden am Rückflußkühler gekocht und das Anilin mit Wasserdampf abgetrieben. Die zurückbleibende rotviolette feste Masse wurde mit 200 g Wasser, dem 10 ccm 10-proz. Natronlauge zugesetzt waren, bis zur vollständigen Lösung (nach 2 Stunden) gekocht. Sodann wurde sehr viel Tierkohle zugegeben und wiederum so lange gekocht, bis ein Probefiltrat fast farblos wurde (2 Stunden). Das Filtrat wurde mit verdünnter Salzsäure schwach angesäuert und das ausgeschiedene bräunlich-weiß aussehende Fluoresceinanilid abgesaugt. Durch dreimaliges Umkristallisieren in verdünntem heißem Alkohol, wobei noch einmal mit Tierkohle aufgekocht wurde, konnte ein annähernd weißes Präparat erhalten werden.

Das Analysenresultat war folgendes:

	Berechnet	Gefunden
C	77,03 Proz.	76,73 Proz.
H	4,19	4,46
N	2,905 „	2,706 „

Das Fluoresceinanilid hatte folgende Eigenschaften:

	Löslichkeit:
Alkohol	Leicht löslich
Eisessig	„
Wasser	Sehr schwer löslich

Die alkalische Lösung zeigt stark grüne Fluoreszenz. Die Lösung in konzentrierter Schwefelsäure ist gelb gefärbt und fluoresziert ebenfalls, jedoch schwächer als die alkalische Lösung. Das Fluoresceinanilid ist durch Kochen mit verdünnten Alkalien und verdünnten Säuren nicht spaltbar. Der Schmelzpunkt des Fluoresceinanilids kann nicht bestimmt werden, da es sich beim Erhitzen zersetzt. Beim Erhitzen über 200° wird das Fluoresceinanilid rot und sublimiert. Das Sublimat ist rot gefärbt.

Die Herstellung der Verdünnungen war dieselbe wie bei Fluorescein.

1:100 (mit $\frac{1}{4}$ N-Natronlauge). Von dieser ausgehend durch Verdünnen mit Wasser (sterilisiert, destilliert) 1:1000, 1:2000, 1:5000, 1:10000, 1:60000, 1:100000, 1:500000, 1:1000000.

Als Nährböden benützte ich Agar-Agar, Gelatine und Bouillon.

Zu je 5 ccm der flüssigen Nährböden wurde 1 ccm der Lösung des Fluoresceinanilids gebracht.

A. Versuche mit *Bacterium typhi*.

Der hierzu verwendete Typhusstamm war derselbe, wie bei den Versuchen mit Fluorescein.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceinanilids.

Konzentration	Makroskopischer Befund
1:100	Kein Wachstum
1:1000	Gutes "

In allen anderen Verdünnungen war ebenfalls gutes Wachstum zu konstatieren.

Kontrolle:

Auf allen 3 ungefärbten Röhrchen sehr gutes Wachstum.

Die Agglutinationsprüfungen der Typhusbakterien, die auf den mit Fluoresceinanilid gefärbten Nährböden gewachsen waren, ergaben folgendes:

(Die Versuchsanordnung war dieselbe, wie bereits bei den Fluoresceinversuchen beschrieben.)

Konzentration	Mikroskopischer Befund
1:100	Keine Bakterien
1:1000	Sehr viele gut bewegliche Bakterien
	Nach 25 Minuten eingetretene Agglutination

Die Agglutination war auch bei den weiteren Verdünnungen vollständig nach 25 Minuten eingetreten.

Auf *Bact. typhi* wirkte demnach Fluoresceinanilid schwächer als Fluorescein.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceinpräparates.

Die Versuche wurden mit Agar-Agar-Nährboden, Gelatine und Bouillon ausgeführt.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Spärliches Wachstum	Gutes "
1:2000	Gutes "	" "

In allen anderen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen. Die photodynamische Wirkung ließ sich bei Fluoresceinanilid bei 24-stündiger Exposition in diffusem Tageslicht konstatieren, da die Kontrollplatten, die ungefärbt diffusem Tageslicht ausgesetzt worden waren, nach 24 Stunden keine Wachstumshemmung erkennen ließen.

Die photodynamische Wirkung trat noch stärker in der Verdünnung 1:1000 hervor, wenn die Platten 48 Stunden exponiert worden waren.

Schwache photodynamische Wirkung war bei 48-stündiger Exposition auch in der Verdünnung 1:2000 zu konstatieren.

Die Verwendung von Gelatine und Bouillon bewirkte keine Veränderung der Versuchsergebnisse.

B. Versuche mit *Corynebacterium diphtheriae*.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceinanilids auf *Corynebacterium diphtheriae*.

Konzentration	Makroskopischer Befund
1:100	Kein Wachstum
1:1000	Gutes "

Auf allen anderen Platten war ebenfalls gutes Wachstum eingetreten. Das Fluoresceinanilid hatte demnach nur in der Konzentration 1:100 giftig gewirkt, was offenbar neben der toxischen Wirkung des Fluoresceinanilids auch der Giftwirkung der Natronlauge zuzuschreiben ist.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Corynebacterium diphtheriae*.

Die Versuche wurden mit Agar-Agar-Nährboden, Gelatine und Bouillon ausführt.

Konzentration	Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Sehr geringes Wachstum	Gutes "
1:2000	Geringes Wachstum	" "
1:5000	Gutes "	" "

Auf den Kontrollplatten war überall gutes Wachstum aufgetreten.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Corynebacterium diphtheriae* ließ sich demnach in der Verdünnung 1:1000 und 1:2000 deutlich erkennen.

Verdünnungen	Exposition 48 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Sehr schwaches Wachstum	Gutes "
1:2000	Schwaches "	" "
1:5000	Gutes "	" "

Auf den Kontrollplatten war überall gutes Wachstum eingetreten.

Die photodynamische Wirkung war bei Exposition von 48 Stunden in den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 etwas stärker als bei der Exposition von nur 24 Stunden.

Verdünnungen	Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Kein Wachstum
1:1000	Sehr schwaches Wachstum	Gutes "
1:2000	Schwaches "	" "
1:5000	" "	" "
1:10 000	Gutes "	" "

In allen anderen Verdünnungen war gutes Wachstum eingetreten, ebenso war in den Kontrollplatten nur eine äußerst geringe Schwächung eingetreten. Die photodynamische Wirkung steigerte sich also bei längerer Exposition.

Eine Tötung in diffusum Tageslicht bei Benützung von photodynamischen Substanzen gelang erst nach 5-tägiger Exposition und zwar nur in der Verdünnung 1:1000. Das Wachstum in der Verdünnung 1:2000 war wohl sehr schwach, jedoch enthielten die Kulturen immer noch lebensfähige Bakterien. Die Verwendung von Gelatine und Bouillon als Nährmedien bewirkten keinerlei Verschiebung des Versuchsergebnisses.

C. Versuche mit *Sarcina lutea* (flava).

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Fluoresceinanilids auf *Sarcina lutea* (flava).

Die Versuchsanordnung war dieselbe wie bei den früheren Versuchen.

Konzentration	Makroskopischer Befund
1:100	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Gutes Wachstum

In allen anderen Verdünnungen war gutes Wachstum eingetreten. Die toxische Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Sarcina flava* war demnach geringer als die toxische Wirkung des Fluoresceins.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Sarcina flava*.

Die Versuche wurden mit Agar-Agar-Nährboden, Gelatine und Bouillon ausgeführt.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Sehr geringes Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Geringes	Gutes Wachstum
1:2000	Mäßig gutes	" "
1:5000	Gutes	" "

In allen anderen Verdünnungen war gutes Wachstum eingetreten. Auf den Kontrollplatten konnte bei einer Exposition von 24 Stunden keine Schädigung durch diffuses Tageslicht wahrgenommen werden.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 48 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Sehr geringes Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	"	Gutes Wachstum
1:2000	Geringes Wachstum	" "
1:5000	Gutes	" "
1:10 000	"	" "

Verdünnungen	Dauer der Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Sehr geringes Wachstum	Gutes Wachstum
1:2000	" "	" "
1:5000	" "	" "
1:10 000	Schwaches	" "
1:60 000	Gutes	" "

Auf den dem diffusen Tageslicht ausgesetzten Platten waren die Kulturen etwas abgeschwächt, jedoch waren sie gegenüber den auf Fluoresceinanilidplatten angegangenen Kulturen wesentlich kräftiger.

Die Verwendung von Gelatine und Bouillon als Nährmedien bewirkte keinerlei Verschiebung des Versuchsergebnisses.

D. Versuche mit *Micrococcus rosaceus*.

Die Versuche im Hellen und Dunkeln ergaben folgendes:

Verdünnungen	Dauer der Exposition 48 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Sehr geringes Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	" "	Gutes Wachstum
1:2000	" "	" "
1:5000	Gutes Wachstum	" "

In den übrigen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Kein Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:1000	Sehr geringes Wachstum	Gutes Wachstum
1:2000	" "	" "
1:5000	Mäßig gutes	" "
1:10 000	Gutes Wachstum	" "

In den übrigen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nicht exponierten Platten konstatieren.

Bei Benützung von Gelatine und Bouillon konnten keine Wachstumsunterschiede wahrgenommen werden.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids war auf *Micrococcus rosaceus* ähnlich stark wie auf *Sarcina lutea* (flava). Die Platten, die ungefärbt diffusem Tageslicht ausgesetzt worden waren, zeigten sehr geringe Abschwächung.

G. Versuche mit *Actinomyces*.

Verdünnungen	Exposition 3 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Sehr geringes Wachstum	Gutes Wachstum
1:1000	Geringes	" "
1:2000	Mäßig gutes	" "
1:5000	Gutes Wachstum	" "

In allen anderen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nicht exponierten Platten konstatieren.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Actinomyces* war wesentlich stärker als die des Fluoresceins.

H. Versuche mit *Saccharomyces rosaceus*.

Verdünnungen	Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Mäßig gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:1000	Gutes Wachstum	" "

In allen anderen Verdünnungen ließen sich keine Wachstumsunterschiede zwischen exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen.

Die photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids war demnach stärker als die des Fluoresceins. *Saccharomyces rosaceus* zeigte nach 4-tägiger Exposition in diffusem Tageslicht nur sehr geringe Wachstumshemmung.

3. Versuche mit Eosin.

Zur Anwendung gelangte das Handelspräparat von E. Merck, Darmstadt und zwar „Eosin gelblich“ und „Eosin bläulich“.

Die Verdünnungen, mit denen die Nährböden gefärbt wurden, waren folgende:

Eosin gelblich	Eosin bläulich
Alle Verdünnungen wurden mit destilliertem sterilisierten Wasser hergestellt.	
1:100	1:100
1:500	1:500
1:1000	1:1000
1:2000	1:2000
1:3000	1:3000
1:4000	1:4000
1:5000	1:5000
1:10 000	1:10 000
1:20 000	1:20 000
1:50 000	1:50 000
1:100 000	1:100 000
1:500 000	1:500 000
1:1 000 000	1:1 000 000

Eosin gelblich.

Die Herstellung der zu färbenden Nährböden sowie die Ausführung der Färbung war dieselbe wie bei Fluorescein beschrieben.

A. Versuche mit *Bacterium typhi*.

Der hierzu verwendete Typhusstamm war derselbe wie bei den Versuchen mit Fluorescein. Es wurden zu den Versuchen stets 24 Stunden alte Kulturen genommen.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Eosins nach 24 Stunden:

Verdünnungen	Makroskopischer Befund		
1:100	Gutes Wachstum.	Kultur stark rot gefärbt.	Typisch schimmernd.
	Nährboden rot		
1:500	Gutes Wachstum	Kultur blaßrötlich.	Nährboden rosa. Typisches
1:1000	Gutes typisches Wachstum.	Kultur blaßrötlich.	Nährboden rosa
1:2000	"	"	blaßrot.
1:3000	"	"	rötlich.
1:4000	"	"	" grünrot
1:5000	Wachstum.	Kultur blaßrot.	Nährboden grünrot
1:10 000	"	"	"
1:20 000	"	"	blaßgrünrot
	"	schwach blaßrot.	Nährboden zeigt keine
	Farbe mehr		
1:50 000	Gutes Wachstum.	Kultur schwachblaßrot.	Nährboden farblos
1:100 000	"	Nährboden farblos.	Kultur blaßrosa
1:500 000	"	Wachstum typisch.	Kultur wie Nährboden farblos
1:1 000 000	"	Nährboden wie Kultur farblos	

Das sehr Auffallende an diesen Untersuchungen war die stark hervortretende Färbung der Kulturen. Die Färbung der Kultur war immer intensiver als die des Nährbodens. Der Uneingeweihte hätte z. B. die Kulturen, die auf der Verdünnung 1:100 000 gewachsen sind, niemals für *Bact. typhi* gehalten, sondern etwa für *Micr. roseus*. Die Typhusbacillen hatten den Farbstoff, der in sehr geringer Menge dem Nährboden beigemischt war (der Nährboden war in dieser Verdünnung farblos), förmlich extrahiert.

Die mikroskopische Untersuchung der auf den Eosinnährböden gewachsenen Typhuskulturen ergab folgende interessante Einzelheiten der „vitalen Färbung“.

Verdünnung 1:100. Die Stäbchen sind sehr gut beweglich.

Die dünne Membran des Bakteriums war blaßrot gefärbt. Der übrige Bakterienkörper zeigte keine oder doch nur eine schwachrosa Färbung. In dem Bakterienleib befinden sich drei intensiv rot gefärbte Körner. Zwei dieser Körner sind polar angeordnet, das dritte befindet sich an der Seite oder in der Mitte. Da sich die Bakterien wälzen, bei der Bewegung umdrehen, so ruft es den Eindruck hervor, als ob dieses im Innern sich befindliche Körnchen sich selbst bewegen würde. Einmal findet man das Körnchen links, im nächsten Augenblick befindet es sich an der rechten Seite. Uebrigens ist die Möglichkeit nicht ausgeschlossen, daß dieses innere Körnchen sich wirklich bewegt. In der Regel befindet sich das innere Körnchen nicht in der Mitte des Bakterienkörpers, sondern entweder in der oberen oder unteren Hälfte.

Da die Bakterien zur Untersuchung im hängenden Tropfen vorher mit physiologischer Kochsalzlösung aufgeschwemmt worden waren, war noch zu untersuchen, ob durch diese Lösung eine Extraktion des vielleicht an der Membran haftenden Farbstoffs stattgefunden habe, und erst durch die Kochsalz-Eosinlösung die Körnchenfärbung zu stande gekommen sei.

Es wurden zu dieser Untersuchung folgende Versuche gemacht:

1) Es wurde eine Kultur von dem Eosinnährboden ohne vorherige Aufschwemmung mit physiologischer Kochsalzlösung auf das Deckglas gebracht.

Die mikroskopische Untersuchung ergab auch in diesem Fall die typische, stark hervortretende Körnchenfärbung.

2) Es wurde von der Kontrollröhre, die nicht mit Typhus infiziert worden war, ein Abstrich gemacht und mit einer Eosinlösung 1:100 gefärbt. Die Färbung war bei 1—30 Minuten langer Einwirkung immer

eine sehr schwache. Polkörner oder irgend eine deutlich sichtbare Strukturierung war nicht bemerkbar. Der ganze Bakterienkörper war vollständig gleichmäßig rosarot gefärbt.

Es mußte sich demnach um eine Eigenschaft des lebenden Bakteriums handeln, das Eosin selbst in sehr großer Verdünnung aus dem Nährmedium zu extrahieren und in die Körner aufzunehmen.

Welche Bedeutung diesen Körnern, die im ungefärbten Präparat übrigens oft schwach sichtbar werden und z. B. von Möller erwähnt werden, ist unbekannt. Es liegt nahe, diese Körner, die nach dem obigen Befunde den Farbstoff extrahieren, für eine Art Schutzorgan zu halten, dessen Funktion darin besteht, schädliche Körper in sich aufzunehmen und dadurch für den übrigen Bakterienleib unschädlich zu machen.

Für diese Annahme könnte der Umstand sprechen, daß die Kulturen in der Verdünnung von 1:100 noch sehr gut gediehen.

Zu bemerken ist noch, daß die Körnchenfärbung am schönsten in den stärkeren Konzentrationen (1:100, 1:500) hervortrat.

Die Körnchenfärbung läßt sich zweifellos zur Differentialdiagnose von *Bacterium coli* und *Bacterium typhi* verwerten. Die Färbung ist sehr typisch und findet sich bei *Bact. coli*, der keine Körnchen zeigt, nicht. Bei meinen zahlreichen Untersuchungen über die Isolierung von Typhusbacillen aus Kot und Urin von Typhusverdächtigen habe ich gefunden, daß die Beobachtung der morphologischen Verhältnisse der verdächtigen Kolonien unter Benützung der einfachsten Nährböden (Gelatine, Agar) zum mindesten ebenso schnell zum Ziele führt, als die Anwendung aller der zahlreichen zur Differentialdiagnose von Coli- und Typhusbakterien empfohlenen „Spezialnährböden“. Und gerade die Körnchenfärbung ist ein sehr deutliches Merkmal, dessen Beobachtung bei Anwendung eines so einfachen Nährbodens, wie es der Eosinnährboden ist, gar keine Schwierigkeiten macht.

Versuche darüber, wie weit die Kot- und Urinuntersuchung auf Typhusbacillen dadurch vereinfacht werden kann, daß man von dem zu untersuchenden Objekt Mengen in mit Eosin gefärbte Bouillon bringt, in den Brutschrank stellt und sodann unter dem Mikroskop untersucht, stelle ich zur Zeit an. Sie berühren das vorliegende Thema, Untersuchungen über photodynamische Substanzen, nicht. Auch hierüber, wie weit die Färbung bei Weiterzüchtung auf ungefärbten Nährböden anhält, sind Untersuchungen eingeleitet.

Mit allen Kulturen wurden Agglutinationsprüfungen vorgenommen. (Die Ausführung derselben war dieselbe wie bei Fluorescein beschrieben.) Das Ergebnis war folgendes:

Verdünnungen	Mikroskopischer Befund
1:100	Nach 25 Minuten eingetretene Agglutination
1:500	„ 25 „ „ „

Die Agglutination war in allen Verdünnungen positiv nach 25 Minuten, war also gegenüber dem Kontrollpräparat unverändert.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Eosins auf Typhusbacillen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	„ „	„ „

In den übrigen Verdünnungen ließ sich ebenfalls kein Unterschied unter den exponierten und nicht exponierten Platten wahrnehmen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 48 Stunden			
	Hell		Dunkel	
1:100	Abgeschwächtes	Wachstum	Gutes	Wachstum
1:500	Mäßig "	"	"	"
1:1000	Gutes	Wachstum	"	"
1:2000	"	"	"	"

In den übrigen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 72 Stunden			
	Hell		Dunkel	
1:100	Sehr schwaches	Wachstum	Gutes	Wachstum
1:500	Abgeschwächtes	"	"	"
1:1000	"	"	"	"
1:2000	Gutes	Wachstum	"	"

Die Kontrollplatten (ungefärbt und belichtet) ließen ein mäßig gutes Wachstum erkennen, jedoch wesentlich stärker als auf den Platten, die mit Eosin gefärbt exponiert worden waren.

Die photodynamische Wirkung des Eosins ist wesentlich stärker als die des Fluoresceins und Fluoresceinanilids.

Die Verwendung von Gelatine und Bouillon bewirkte keine Unterschiede.

B. Versuche mit *Corynebacterium diphtheriae*.

Der zu den Versuchen verwendete Diphtheriebacillenstamm war derselbe wie bei den früheren Versuchen.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Eosins.

Versuche mit Agar-Agar-Nährböden:

Verdünnungen	Makroskopischer Befund			
	Gutes Wachstum.	Kultur	rot	
1:100	"	"	"	"
1:500	"	"	"	"
1:1000	"	"	"	"
1:2000	"	"	"	"
1:3000	"	"	"	"
1:4000	"	"	"	"
1:5000	"	"	"	"
1:10 000	Mäßig gutes Wachstum.	Rosarote	Kolonie	
1:20 000	Gutes Wachstum.	Rosarote	Kolonie	
1:50 000	"	Blaßrote	Kultur	
1:100 000	"	Weißer	"	
1:500 000	"	"	"	
1:1 000 000	"	"	"	

Auch die Diphtheriebacillen hatten den Eosinfarbstoff des Nährbodens an sich gezogen. In der Verdünnung 1:10 000, wo der Nährboden nur ganz schwach rot, kaum sichtbar gefärbt, war die Kultur deutlich rot. Es war unschwer, aus der mehr oder minder intensiven Farbe der Kultur auf den Verdünnungsgrad des Farbstoffs im Nährboden zu schließen¹⁾.

Die mikroskopische Untersuchung von den Kulturen der Verdünnungen 1:100, 1:500 ergab auffallend viele krumm gebogene Bakterien, die die auf dem ungefärbten Nährboden gewachsenen Kulturen nicht aufwiesen.

Alle Diphtheriebacillen zeigten die typische „Zebrastruktur“.

Wie weit Agar-Agar-Nährboden mit Eosin gefärbt den Blutserumkulturen bei Züchtung von Diphtheriebacillen aus Diphtheriemembranen vorzuziehen ist, wird durch weitere Versuche zur Zeit festgestellt.

1) Es ist nicht ausgeschlossen, diese Eigenschaft des Diphtheriebacillus und Typhusbacillus, die zweifellos auch andern mit relativ dünner Membran ausgestatteten Bakterien zukommt (Kokken und Sarcinen sind nach meinen Untersuchungen ausgeschlossen), als eine biologisch-kolorimetrische Methode zur Bestimmung des Eosingehalts bei sehr großer Verdünnung des Eosins zu gebrauchen.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Eosins auf *Corynebacterium diphtheriae*.

Versuche mit Agar-Agar-Platten:

Verdünnungen	Dauer der Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Mäßig gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	"	"
1:1000	Gutes Wachstum	"

Bei allen anderen Verdünnungen ließen sich keine Unterschiede unter den exponierten und nicht exponierten Platten konstatieren.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 48 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Spärliches Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	"	"
1:1000	Mäßig gutes	"
1:2000	Gutes Wachstum	"

In allen anderen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nichtexponierten Platten wahrnehmen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Spärliches Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	"	"
1:1000	"	"
1:2000	Gutes	"

In allen anderen Verdünnungen konnten keine Unterschiede unter den exponierten und nichtexponierten Platten gefunden werden.

4. Versuche mit „Eosin E. Merck bläulich“.

A. Versuche mit *Bacterium typhi*.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Eosins.

Verdünnungen	Makroskopischer Befund		
1:100	Gutes Wachstum.	Kultur dickrot	
1:500	"	"	stark rot
1:1000	"	"	rot
1:2000	"	"	blaßrot

Auf allen anderen Verdünnungen war gutes Wachstum eingetreten. Die Farbe war mehr oder weniger rot, je nach der mehr oder weniger großen Verdünnung des „Eosin bläulich“.

Die Kulturen waren gegenüber den Färbungen bei „Eosin gelblich“ stärker rot gefärbt.

Die Typhusbacillen zeigten im hängenden Tropfen wieder die charakteristische Körnchenfärbung. Der Bakterienkörper war blaßrötlich, die Körnchen dunkelrot gefärbt.

Die Agglutinationsprüfungen ergaben dasselbe Resultat, wie bei „Eosin gelblich“, so daß es genügt, auf dieses zu verweisen. Die Agglutination war bei allen Kulturen nach 25 Minuten vollständig eingetreten.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln. Prüfung der photodynamischen Wirkung des Eosin bläulich auf Typhusbacillen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 24 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	"	"

In den übrigen Verdünnungen ließ sich kein Unterschied unter den exponierten und nicht exponierten Platten wahrnehmen.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 72 Stunden	
	Hell	Dunkel
1:100	Schwaches Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	"	"
1:1000	Mäßig gutes "	"
1:2000	Gutes Wachstum	"

Auf den anderen Platten ließen sich keine Unterschiede unter den exponierten und nichtexponierten Platten konstatieren.

B. Versuche mit *Corynebacterium diphtheriae*.

Versuche im Hellen und Dunkeln.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Sehr schwaches Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	Schwaches "	"
1:1000	Spärliches "	"
1:2000	Schwaches "	"
1:3000	Gutes "	"

Auf den anderen Platten war überall gutes Wachstum eingetreten.

C. Versuche mit *Sarcina flava*.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Eosins bläulich.

Verdünnungen	Makroskopischer Befund	
1:100	Sehr gutes Wachstum.	Rot gefärbte Kultur. Nährboden stark rot
1:500	" " "	(gegenüber den größeren Verdünnungen so- gar noch besseres Wachstum). Kultur rosa gefärbt, mit schwach gelblichem Schein. Nährboden rot
1:1000	Gutes Wachstum.	Kultur gelbrot
1:2000	" " "	"
1:3000	" " "	Nährboden rosa
1:4000	Mäßig gutes Wachstum.	Gelbrote Kultur
1:5000	Gutes Wachstum.	Gelbliche Kultur. Nährboden rosa
1:10 000	" " "	Gelbe
1:20 000	Mäßig gutes Wachstum.	Gelbe Kultur. Bläßroter Nährboden
1:50 000	" " "	Kultur gelb.
1:100 000	" " "	Gelbe Kultur. Bläßrötlicher "
1:500 000	" " "	Weißer "

In allen anderen Röhrchen waren dieselben Verhältnisse wie in der Verdünnung 1:500 000.

b) Versuche im Hellen und Dunkeln.

Sarcina flava zeigte sich den beiden Eosinarten gegenüber als sehr resistent.

Eosin gelblich Verdünnungen	Dauer der Exposition 4 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Mäßig gutes Wachstum	Gutes Wachstum
1:500	Gutes Wachstum	" "

Auf allen anderen Platten gutes Wachstum.

Eosin bläulich Verdünnungen		
	Hell	Dunkel
1:100	Gutes Wachstum	Gutes Wachstum

Auch auf allen anderen Platten gutes Wachstum.

D. Versuche mit *Micrococcus rosaceus*.

a) Versuche im Dunkeln.

1. Wachstum im Brutschrank. Prüfung der Toxizität des Eosins auf *Micr. rosaceus*.

Verdünnungen	Makroskopischer Befund				
1:100	Sehr geringes Wachstum, Nährboden und Kultur rot				
1:500	Mäßiges Wachstum. Nährboden rot. Kultur rot				
1:2000	"	"	"	"	"
1:3000	"	"	"	rosa	rosa
1:4000	"	"	"	"	"
1:5000	Gutes	"	"	"	"
1:10 000	"	"	"	blaßrot	"
1:20 000	"	"	"	"	"
1:100 000	"	"	"	weiß	blaßrot
1:500 000	Schwaches	"	"	"	"
1:1 000 000	Mäßig gutes Wachstum.	"	"	"	"

b) Versuche im Hellen und Dunkeln.

Verdünnungen	Dauer der Exposition 3 Tage	
	Hell	Dunkel
1:100	Mäßig gutes Wachstum	Mäßig gutes Wachstum
1:500	Mäßiges Wachstum	Mäßiges Wachstum
1:2000	"	"

Auf den anderen Platten konnten nur sehr geringe Wachstumsunterschiede unter den exponierten und nicht exponierten Platten konstatiert werden. Die photodynamische Wirkung war demnach sehr minimal.

Zusammenfassung der bakteriologischen Resultate.

1) Fluorescein erwies sich in der Verdünnung 1:100 (Lösung mit $\frac{1}{4}$ Natronlauge) Typhusbacillen gegenüber giftig. Die Giftwirkung ist außer dem Fluorescein der Natronlauge zuzuschreiben.

2) Die Agglutinierbarkeit der auf den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 gewachsenen Typhusbakterien war etwas geschwächt. Die Agglutination war nach 25 Minuten noch nicht vollständig eingetreten, erst nach 35 Minuten.

3) Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins ist bei 24-stündiger Exposition in der Verdünnung von 1:1000 bemerkbar; bei einer Exposition von 48 Stunden ist die photodynamische Wirkung auch in der Verdünnung von 1:2000 bemerkbar. Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins auf *Bact. typhi* ist sehr schwach.

4) Typhusbacillen gehen auf ungefärbtem Agar-Agar-Nährboden selbst bei einer Exposition von 4—6 Tagen in diffusem Tageslicht nicht zu Grunde. Sonnenlicht tötet nach 15 Stunden. Bei letzterem konnte eine Beschleunigung der Abtötung auf Fluoresceinnährböden nicht konstatiert werden.

5) Die Anwendung von Gelatine und Bouillon bewirkten keine wesentlichen Unterschiede in der photodynamischen Wirkung des Fluoresceins.

6) Die von der Lösung von Fluorescein ausgehenden Strahlen hatten auf Typhusbakterien keine Einwirkung bei einer Exposition von 6 Stunden im Sonnenlicht. Bei einer 15-stündigen Exposition war eine geringe Schädigung bemerkbar. Wo Sonnenlicht also abtötend gewirkt hatte, konnte bei Vorschaltung eines Strahlenfilters, bestehend aus einer stark fluoreszierenden Lösung von Fluorescein, nur eine Wachstumshemmung konstatiert werden.

7) Fluorescein wirkte in der Verdünnung von 1:100 und 1:2000, 1:5000, 1:10000 auf *Corynebacterium diphtheriae* giftig.

8) Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins auf *Corynebacterium diphtheriae* ließ sich bis zu einer Verdünnung von 1:60000 bei Exposition von 24 Stunden deutlich erkennen. 48-stündige Exposition hatte eine noch intensivere Einwirkung zur Folge.

9) *Corynebacterium diphtheriae* ließ sich selbst bei 4-tägiger Exposition in diffusem Tageslicht nicht abtöten. Im Sonnenlicht konnte nach 10-stündiger Exposition kein Wachstum mehr wahrgenommen werden.

10) Auch *Corynebacterium* erwies sich den mittels eines Strahlenfilters abfiltrierten Strahlen gegenüber als sehr resistent.

11) Die photodynamische Wirkung auf *Sarcina lutea* ist sehr gering.

12) *Sarcina lutea* wurde im Sonnenlicht nach 36-stündiger Exposition abgetötet.

13) Die Einwirkung des Fluoresceins im Dunkeln war bei *Bacterium prodigiosum* eine intensivere als bei *Sarcina lutea*.

14) Photodynamische Wirkung des Fluoresceins auf *Bacterium prodigiosum* ließ sich bis zu einer Verdünnung von 1:2000 erkennen.

15) Sonnenlicht bewirkte Abtötung von *Bacterium prodigiosum* nach 16-stündiger Belichtung.

16) Die photodynamische Wirkung des Fluoresceins ist auf *Micrococcus rosaceus* sehr gering. Dasselbe ist bei *Micrococcus sulfureus* der Fall.

17) Eine photodynamische Wirkung des Fluoresceins auf *Actinomyces* war selbst bei 3-tägiger Exposition nicht erkennbar.

18) Eine photodynamische Wirkung des Fluoresceins auf *Saccharomyces rosaceus* war nach 3-tägiger Exposition nicht zu erkennen.

19) *Saccharomyces rosaceus* starb im Sonnenlicht nach 30 Stunden.

20) Fluoresceinanilid wirkte in der Konzentration 1:100 auf *Typhusbacillen* giftig.

21) In der Verdünnung 1:1000 war nach 25 Minuten vollständige Agglutination eingetreten.

22) Photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Typhusbakterien* ließ sich nach 24 Stunden erkennen.

23) Schwache Photodynamie ließ sich bei 48-stündiger Exposition auch in der Verdünnung von 1:2000 konstatieren.

24) Fluoresceinanilid wirkte in der Verdünnung 1:100 auf *Corynebacterium diphtheriae* giftig ein.

25) Photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids auf *Corynebacterium diphtheriae* ließ sich bei 24-stündiger Exposition in den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 deutlich erkennen.

26) Tötung von *Corynebacterium diphtheriae* bei Anwendung photodynamischer Substanzen im Hellen erfolgte nach 5-tägiger Exposition in der Verdünnung 1:1000.

27) Auf *Sarcina lutea* wirkte Fluoresceinanilid nach 24-stündiger Exposition in den Verdünnungen 1:1000 und 1:2000 photodynamisch ein. Bei 48-stündiger Exposition bis zu den Verdünnungen 1:10000.

28) Die photodynamische Wirkung des Fluoresceinanilids war auf *Micrococcus rosaceus* ähnlich stark wie auf *Sarcina lutea*.

29) Auf *Actinomyces* wirkte Fluoresceinanilid wesentlich stärker photodynamisch ein als Fluorescein, ebenso auf *Sacch. rosaceus*.

30) Eosin gelblich und Eosin bläulich bewirkten charakteristische Körnchenfärbungen des *Typhusbakteriums* in lebendem Zustande. Die Färbung läßt sich zur Differentialdiagnose von *Bact. typhi* und *Bact. coli* verwenden.

31) Die *Typhusbakterien* extrahieren den Farbstoff dem Nährmedium.

32) Eine Giftwirkung übt Eosin selbst in der Verdünnung von 1:100 nicht aus.

33) Die photodynamische Wirkung des Eosins ist wesentlich stärker als die des Fluoresceins und Fluoresceinanilids.

34) Auch bei den *Diphtheriebacillen* war eine Extraktionswirkung zu konstatieren.

35) Die photodynamische Wirkung des Eosins auf Diphtheriebakterien war stärker als die auf Typhusbakterien.

36) Mäßige Extraktion des Farbstoffes bewirkten auch *Sarcina flava* und *Micrococcus rosaceus*.

Vorliegende Arbeit wurde im Jahre 1906 und 1907 ausgeführt, die chemischen Untersuchungen im Frühjahr und Sommer 1906 im chemischen Laboratorium der Kgl. Technischen Hochschule Stuttgart, die bakteriologischen Untersuchungen im Laboratorium der städt. bakteriologischen Untersuchungsstation und in meinem Privatlaboratorium.

Literatur.

- 1) Raab, Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien. (Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXIX. 1900. Heft 4.)
- 2) v. Tappeiner, Ueber die Wirkung fluoreszierender Stoffe auf Infusorien, nach Versuchen von O. Raab. (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 1.)
- 3) Phil. Trans. 1852. part. 2, 463, zit. nach Kauffmann, Die Beziehungen zwischen Fluoreszenz und chemischer Konstitution. Stuttgart 1906.
- 4) v. Tappeiner und Jodlbauer, Ueber die Wirkung der photodynamischen (fluoreszierenden Stoffe) auf Protozoen und Enzyme. (Deutsches Archiv f. klin. Med. Bd. LXXX. 1904.)
- 5) Busck, Die photobiologischen Sensibilisatoren und ihre Eiweißverbindungen. (Biochem. Zeitschr. Bd. I. 1906.)
- 6) v. Tappeiner, Ueber das photodynamische und optische Verhalten der Anthrachinone. Kap. 3. Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Leipzig 1907.
- 7) Münch. med. Wochenschr. 1901. p. 1810.
- 8) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 25. Kap. 6. Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Leipzig 1907.
- 9) Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX. 1897.
- 10) Dissert. Zürich. 1905.
- 11) Dissert. Zürich. 1905.
- 12) Dissert. München. 1905.
- 13) Cfr. 8.
- 14) Die sensibilisierende Wirkung fluoreszierender Substanzen. Kap. 6. Leipzig 1907.
- 15) Dissert. München. 1903 und 1905.
- 16) Dissert. München. 1903.
- 17) Dissert. München. 1903.
- 18) Dissert. München. 1904.
- 19) Dissert. München. 1905.
- 20) Dissert. München. 1906.
- 21) Cfr. 14. Kap. 9.
- 22) Cfr. 11.
- 23) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLI. 1901.
- 24) Cfr. 14. Kap. 14.
- 25) Münch. med. Wochenschr. 1905. No. 7.
- 26) Wiener klin. Wochenschr. 1905. No. 9; 1905. No. 13.
- 27) Cfr. 5.
- 28) Cfr. 5.
- 29) Dermatolog. Zeitschr. Bd. X. 1903.
- 30) Cfr. 14. Kap. 4.
- 31) Cfr. 14. Kap. 4.
- 32) Mitt. aus Finsens med. Lichtinstitut. 1904. Heft 8; 1903. Heft 4; Hospitalstidende. 1904. No. 16.
- 33) Deutsche med. Wochenschr. Bd. XXX. 1904. No. 21.
- 34) Ibidem.
- 35) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XLIV. 1902.
- 36) Cfr. 14. Kap. 8.
- 37) Cfr. 14. Kap. 14.
- 38) Cfr. 14. Kap. 11.
- 39) Cfr. 14. Kap. 10.
- 40) Cfr. 14. Kap. 1.
- 41) Ibidem.
- 42) Zeitschr. f. Biologie. Bd. XXXIX. 1900.
- 43) Annales de l'Institut Pasteur. T. XVI. 1902.

- 44) Cfr. 14. Kap. 1.
- 45) Biochem. Centralbl. Bd. I; Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXX.
- 46) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 25.
- 47) Cfr. 14. Kap. 5.
- 48) Ibidem.
- 49) Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. XXXV.
- 50) Münch. med. Wochenschr. 1904. No. 36.
- 51) Cfr. 14. Kap. 5.
- 52) Beiträge zur Photochemie. Bd. II. Wien 1904.
- 53) Cfr. 14. Kap. 5.
- 54) Vogel, H. W., Handbuch der Photographie.
- 55) Cfr. 14. Kap. 5.
- 56) Cfr. 14. Kap. 7.
- 57) Finsens med. Lichtinstitut. 1905. Heft 9.
- 58) Liebigs Annalen der Chemie. Bd. CLXXXIII. 1876.
- 59) Centralbl. f. Bakt. Bd. XIV. 1906. No. 22/23.
- 60) Bernsteins Annalen. Bd. CXCII. 1877; Bd. CCXXIV. 1884; Ber. d. Deutschen chem. Gesellsch. Bd. XV. 1882. p. 3012; Bd. XX. 1887. p. 1552.

Nachdruck verboten.

Ueber die tötende Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen.

Von Emil Chr. Hansen.

I.

In der medizinischen Literatur liegt eine große Reihe Arbeiten über diesen Gegenstand vor. Die hierauf bezüglichen Versuche wurden denn auch hauptsächlich mit solchen Fragen im Auge, welche die praktische Heilkunde betreffen, angestellt, und zwar handelt es sich insbesondere um die Desinfektion der Hände des Arztes und der Hebamme, sowie um die geburtschilfliche Desinfektion unter verschiedenen Verhältnissen. Die meisten Autoren haben mit konzentrierten Mischungen von Aethylalkohol gearbeitet; eine Ausnahme bildet Wirgin, der Alkohol von 8,5 Proz. benutzte, welchen er Bouillonkulturen zusetzte, um unter diesen Umständen die Wirkung auf die betreffenden Mikroorganismen zu beobachten¹⁾. Unter Alkoholmischung verstehe ich hier und im nachfolgenden Aethylalkohol mit Wasser vermischt, unter absolutem Alkohol Aethylalkohol von ca. 99 Proz.

Russ hat nicht nur selber eine bedeutende Reihe Untersuchungen über die Einwirkung der höheren Alkoholprocente auf Bakterien ausgeführt, sondern zugleich eine erschöpfende Uebersicht über die einschlägige arzneiwissenschaftliche Literatur mitgeteilt²⁾.

Von botanischer Seite wurden in neuester Zeit von Kurzwelly einige Untersuchungen über den Einfluß veröffentlicht, welchen eine Reihe mehr und weniger wasserfreier Chemikalien auf verschiedene höhere und niedere Pflanzen, teils in feuchtem und teils in eingetrocknetem Zustande, haben³⁾. Einige von seinen Versuchen bezweckten, die Einwirkung des Aethylalkohols auf die nachfolgenden Mikroorganismen zu bestimmen:

1) Wirgin, Zur Wirkung des Aethylalkohols auf Mikroorganismen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XL. 1902.)

2) Russ, Zur Frage der Bakterizidie durch Alkohol. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXXVII. 1904.)

3) Kurzwelly, Ueber die Widerstandsfähigkeit trockener pflanzlicher Organismen gegen giftige Stoffe. (Jahrb. f. wissenschaftl. Botanik. Bd. XXXVIII. 1903.)

Micrococcus prodigiosus, *Sarcina rosea*, *Bacillus subtilis* und eine Brauereihefe (Unterhefe?).

Bezüglich der betreffenden Literatur sei auf diese Abhandlung und die oben angeführte von Russ verwiesen. In dieser Beziehung habe ich nichts weiter hinzuzufügen; nur in solchen Fällen, wo ich anlässlich meiner Untersuchungen mich besonders mit irgend einer Abhandlung zu beschäftigen habe, werde ich diese auch zitieren.

Die Veranlassung zu den gegenwärtigen Studien gaben mir meine Untersuchungen über nässendes Ekzem und die darin auftretenden Bakterien. In mehreren Fällen werden bekanntlich die mit dieser Benennung belegten Krankheitsformen dermaßen chronisch, daß die Anfälle in kurzen Zwischenräumen zurückkehren oder eigentlich vielmehr gar nicht aufhören. Vor einigen Jahren hatte ich Gelegenheit, einen solchen Fall an mir selbst zu untersuchen. Nachdem ich mich mit einem kundigen Arzte beraten hatte, versuchte ich es mit den üblichen Mitteln; da dieselben aber im Verlaufe von einem Jahre nur eine höchstens vorläufige Abhilfe, aber gar keine Heilung brachten (die Anfälle kehrten nämlich immer wieder, öfters sogar in kurzen Zwischenräumen, und die Krankheit begann, sich über einen größeren Teil der Haut als früher auszudehnen), fiel mir ein altbekanntes Hausmittel bei, welches bezweckt, die Haut gegen Angriffe von Schweiß und Druck zu schützen, nämlich Alkohol. Zu einem Zeitpunkte, wo die Wunden mit dünner Haut geschlossen waren und der Zustand überhaupt einigermaßen gut war, badete ich dann täglich die kranken Stellen mit warmem Wasser und nahm zugleich wenigstens einmal die Woche ein Abwaschen mit Seife vor. Gleich nach jedesmaligem Baden legte ich eine in absoluten Alkohol getauchte, leinene Binde darüber, gewöhnlich etwa eine Viertelstunde. Durch Fortsetzung dieser Behandlung ein paar Monate hindurch gelang es mir allmählich, die Haut dermaßen zu stärken, daß sie sodann zum ersten Male nach dem Ausbruch der Krankheit sich eine Zeit lang gesund und kräftig hielt. Im Laufe des ersten Jahres bekam ich freilich ein paar Rückfälle; nachdem ich aber die Wunden mit einer starken Lösung von Höllenstein geätzt und dann täglich eine kurze Zeit mit warmem Wasser und gemeiner Zinksalbe behandelt hatte, schlossen sie sich ziemlich schnell mit dünner Haut, worauf ich zugleich mit der Warmwasserbehandlung die Behandlung mit absolutem Alkohol wieder aufnahm. Mittels dieses Verfahrens ist es mir gelungen, die Krankheit zu unterdrücken, so daß ich jetzt seit mehr als fünf Jahren keinen neuen Anfall bekommen habe. In vielen Fällen wird es nicht notwendig sein, zu einem so stark wirkenden Mittel, wie das oben erwähnte Aetzen, seine Zuflucht zu nehmen; die modernen Dermatologen reden sicherlich mit Recht der Anwendung gelinder Mittel das Wort. Später habe ich, durchweg mit Erfolg, die Alkoholbehandlung auf eine ziemlich große Anzahl Personen angewendet, zumeist Männer im Alter von 40—62 Jahren, bei welchen größere oder kleinere Parteen an den Füßen, den Beinen, um den Anus bezw. um das Geschlechtsglied herum angegriffen waren. Bemerken muß ich, daß es sich nicht um besonders bösartige Fälle, auch niemals um solche, wo sehr große Teile angegriffen waren, handelte. Auch in solchen Fällen, wo die Haut seit mehreren Jahren eigentlich nie vollständig normal, sondern nur dünn, rot, glänzend war, gelang es mir mehrmals, durch Alkoholbehandlung eine gesunde und normale Hautbildung wieder hervorzubringen und zu bewahren. Aus den Berichten der medizinischen Autoren über die Ein-

wirkung des Alkohols auf Bakterien ersah ich, daß einige zu dem Resultate gekommen waren, daß absoluter Alkohol nur eine sehr geringe oder gar keine abtötende Wirkung äußerte, daß aber eine Mischung von 50 bis 55 Proz. in dieser Beziehung, auch auf vertrocknete Bakterien, eine kräftige Wirkung hervorbringen sollte. Ich habe deshalb neben dem absoluten Alkohol meistens auch die genannte schwache Alkoholmischung angewandt. Gleich nach dem Baden mit warmem Wasser benutzte ich gewöhnlich den absoluten Alkohol, und wenn es angezeigt erschien, eine weitere Behandlung zu einer anderen Zeit des Tages, wo die Haut trocken war, vorzunehmen, bediente ich mich hierzu der schwächeren Mischung. Diese Aenderung der Methode gab jedenfalls in einem Falle, wo die Behandlung mit absolutem Alkohol selbst nach dem Verlauf von mehreren Wochen noch keine befriedigende Hautbildung hervorgebracht hatte, ziemlich schnell das gewünschte Resultat. Daß man bei einer so launenhaften Krankheit, wie die in Rede stehende, das anzuwendende Verfahren den Bedürfnissen jedes einzelnen Patienten anpassen muß, brauche ich wohl kaum ausdrücklich zu bemerken. Zu diesen unregelmäßigen Fällen gehören auch diejenigen, wo die Zinksalbe Schaden zu tun schien; ich gebrauchte dann mit günstigem Erfolg Olivenöl, Vaseline oder Vaseline mit Tannin an ihrer Stelle. Es wird vielleicht jemand fragen, ob es sich nicht denken ließe, daß das glückliche Resultat ausschließlich der Behandlung mit warmem Wasser, mit der Zinksalbe und dem Olivenöle etc. zuzuschreiben wäre. Auf diesen Einwurf entgegne ich, daß ich, bevor ich darauf verfiel, die Alkoholbehandlung auf mich selbst anzuwenden, schon lange warmes Wasser und Salbe vergebens gebraucht hatte, und dieselbe Beobachtung habe ich später auch bei anderen Patienten gemacht. Zum Schluß betone ich wiederholt, daß die Alkoholbehandlung erst im zweiten Stadium der Behandlung ihren Platz hat (d. h. in dem Stadium, wo die angegriffenen Stellen sich mit einer dünnen Haut zu bedecken angefangen haben), und ihre Bedeutung liegt lediglich darin, daß sie eine normale Hautbildung in Gang bringt. Im ersten Stadium der Behandlung müssen andere Mittel benutzt werden; weder das Baden mit Alkohol, noch eine längere Zeit hindurch fortgesetzte Behandlung damit in Form von Dunstumschlägen oder sonst irgendwie kann hier etwas ausrichten. Bei einem Patienten, bei dem die Gegend um den Anus herum angegriffen war, und der wegen des dadurch verursachten lästigen Juckens und Stechens sehr an Schlaflosigkeit litt, hatte ein Baden mit absolutem Alkohol jedenfalls die Wirkung, daß er Ruhe bekam. Dieses wiederholte sich mehrmals während des Verlaufes der Krankheit; jedoch auch nicht bei ihm hatte die Alkoholbehandlung in diesem Stadium eine heilende Wirkung.

Da das beschriebene Verfahren also, mit der angegebenen Begrenzung, vorzüglichen Nutzen gewährt, andererseits aber ziemlich unbekannt zu sein scheint, habe ich es für richtig gehalten, bei dieser Gelegenheit die Aufmerksamkeit darauf zu lenken. Dasselbe wird in keinem der an der hiesigen Universität benutzten, von Pontoppidan und Rasch verfaßten ausgezeichneten Handbücher über die Hautkrankheiten erwähnt, und auch nicht in der mir zugänglichen deutschen Literatur habe ich etwas darüber gefunden.

Es ist eine alte Erfahrung, daß Alkohol, namentlich in seinem konzentrierten Zustande, einen abhärtenden Einfluß auf die Haut sowie auch eine wasserentziehende Wirkung übt. Die arzneiwissenschaftlichen Autoritäten, welche sich mit Versuchen und Beobachtungen über die Einwirkung des Alkohols auf das Gewebe beschäftigt haben, sind wohl auch nun-

mehr darüber einig, daß er arterielle Hyperämie und damit eine erhöhte Neubildung hervorruft. Meine oben erwähnten Beobachtungen zeigen sämtlich nach derselben Richtung. Eine weitere Frage, welche uns hier begegnet, ist die betreffs der Wirkung, welche der Alkohol auf die auf der Haut und im nässenden Ekzem auftretenden Mikroorganismen hat. Seit langer Zeit bin ich mit Studien über diesen Gegenstand beschäftigt und dadurch auch zu Untersuchungen allgemeinerer Natur geführt worden. Im Nachfolgenden gebe ich eine Uebersicht über die Ergebnisse, und zwar zuerst über meine Versuche mit Bakterien, dann über meine Versuche mit Hefepilzen.

II.

Die meisten der mit Bakterien gemachten Versuche stellte ich mit den auf der Haut allgemein auftretenden Arten und mit Arten sowohl aus angehenden Stadien als auch aus späteren Entwicklungsstufen der nässenden Ekzemformen an, und zwar in beiden Fällen mit Bakterien, welche Erwachsenen entnommen waren, wobei die Arten zusammengemischt blieben, wie ich sie an den genannten Stellen vorfand. Die erste Gruppe ist im nachfolgenden mit dem Namen Hautbakterien, die zweite mit dem Namen Ekzembakterien bezeichnet. Die Bakterien wurden in allen Fällen mit Hilfe von Büscheln sterilisierter Baumwolle entnommen. Die Hautbakterien wurden den Partien um den Anus und das Geschlechtsglied herum und zwischen den Zehen entnommen, an Personen, welche vor kürzerer oder längerer Zeit an der genannten Krankheit gelitten hatten; die Ekzembakterien entnahm ich der frischen Vesikelbildung und den Wunden. Für einen großen Teil des letzteren Materials bin ich Herrn Oberarzt Dr. med. Rasch, sowie dem verstorbenen Professor Dr. med. Haslund zu großem Dank verpflichtet.

Im Nachfolgenden kommt nur die experimentelle Untersuchung über die Wirkung des Alkohols auf die genannten Vegetationen in Frage. Meine Untersuchungen über die einzelnen Bakterienarten und ihr Verhalten gegenüber den die in Rede stehende Krankheit begleitenden Störungen sind bis jetzt noch nicht so weit gediehen, daß ich sie der Öffentlichkeit vorlegen könnte.

Die Bakterien, mit welchen meine Versuche angestellt wurden, befanden sich teils in feuchtem, teils in getrocknetem Zustande. In ersterem Falle wurde das Material in dem Zustande benutzt, in welchem es sich gleich nach Einsammlung befand, oder es wurde auch vorher in Wasser gut ausgerührt, oder endlich, es kam als eine in Fleischwasserpepton erzeugte junge Vegetation zur Anwendung. Das Resultat war in allen Fällen im wesentlichen dasselbe. Bei der Darstellung der Vertrocknungspräparate benutzte ich Platindrahtstücke, welche eine Dicke von 0,7 mm hatten und bis zu einer Länge von 6 mm in die betreffenden Vegetationen in stark verdünntem Zustande eingetaucht wurden. Das Drahtstück führte deshalb nur eine sehr dünne Schicht der Zellen mit sich. Es wurde danach in ein leeres, sterilisiertes Freudenreich-Kölbchen gebracht, welches dann mehrmals nach allen Richtungen hin geschüttelt wurde, so daß die Zellen über die Seiten und den Boden des Glases gut verteilt wurden und nur sehr wenige an dem Platinstück zurückblieben. Diese Kölbchen wurden darauf in einen dunklen Schrank bei gewöhnlicher Zimmertemperatur gestellt. Ich bediente mich überhaupt des nämlichen Verfahrens wie früher bei meinen Untersuchungen über die Lebensgrenze bei eingetrockneten Hefezellen (Compt. rend. des travaux du laborat. de Carlsberg. T. IV. Livr. 3. 1898). Nach Ablauf von 24—48 Stunden waren die Zellen eingetrocknet. Jedes Kölbchen,

in welches das Platinstück mit ihren Zellen eingeführt war, lieferte Material für zwei Versuche, indem das Drahtstück in ein Kölbchen mit der Alkoholmischung übertragen und dann Alkohol von gleicher Stärke zu den in jenem Kölbchen, aus welchem das Drahtstück genommen war, zurückgebliebenen Zellen gesetzt wurde. Nachdem die Alkoholmischung ihre Wirkung durch die festgesetzte Zeitdauer ausgeübt hatte, wurden die Zellen in Fleischwasserpepton übertragen. Wenn bei dieser Züchtung bei günstigen Temperaturen nach 14-tägiger Aufbewahrung noch kein Lebenszeichen erkennbar war, wurden die Zellen als tot betrachtet.

Die in feuchtem Zustande befindlichen Vegetationen wurden nach der Behandlung mit Alkohol in derselben Weise wie die eingetrockneten Vegetationen gezüchtet. Nach nur 1 Minute langer Einwirkung des absoluten Alkohols waren sie stets abgetötet, in den meisten Fällen auch von Mischungen mit 60–50-proz. Alkohol; dagegen hatten Mischungen mit 45 Proz. und darunter keine solche schnelle Wirkung.

Die Vegetationen in eingetrocknetem Zustande verhielten sich absolutem Alkohol gegenüber anders, indem sie nämlich in allen geprüften Fällen nach 1 Minute langer Einwirkung noch am Leben waren. Unter Beeinflussung von 60–50-proz. Alkohol durch die nämliche Zeitdauer wurden sie dagegen stets abgetötet; ebenso wie die feuchten Zellen, konnten auch die eingetrockneten die oben erwähnte, 1 Minute und darüber dauernde Einwirkung von Alkoholmischungen unter 50 Proz. vertragen. Durch Einwirkung absoluten Alkohols für 1 Minute wurden also die eingetrockneten Zellen nicht abgetötet; daß sie auch 8 Minuten lang diese Einwirkung aushalten können, zeigten die angestellten zwei Proben. Wo die Grenze liegt, wurde nicht ermittelt. Die Mischung von 60–50 Proz. hatte eine bemerkenswerte, schnell abtötende Wirkung auf die getrockneten Bakterien.

Hautbakterien und Ekzembakterien zeigten ein gleiches Verhalten; dies gilt sowohl den Versuchen mit feuchten wie den Versuchen mit trockenen Zellen.

Die Beobachtung, daß Bakterien in feuchtem Zustande eine geringere Widerstandsfähigkeit gegenüber konzentriertem Alkohol besitzen, als eingetrocknete Bakterien, findet nach Gruber ihre natürliche Erklärung darin, daß die Wände der getrockneten Zellen vorerst Wasser aufnehmen und etwas anschwellen müssen, ehe der Alkohol bis zum Zelleninhalt hineindringen kann. In eben demselben Maße wie die Zelle eingetrocknet ist, wird demnach eine mehr oder weniger wasserhaltige Alkoholmischung eine stärkere Einwirkung ausüben als eine konzentrierte. Daß die Alkoholmischung eine gewisse Stärke haben muß, um in einer gegebenen Zeit überhaupt eine abtötende Wirkung hervorbringen zu können, ist wieder etwas anderes.

In Hinsicht auf das Verständnis der beschriebenen Alkoholbehandlung des nässenden Ekzems geben uns die Versuche den Aufschluß, daß Alkohol sowohl gegenüber Haut- als Ekzembakterien eine bakterizide Wirkung ausübt. Wenn man trockene Hautpartien zu desinfizieren wünscht, soll man eine Mischung von 50–60 Proz. anwenden; auf die durch das Baden feucht gemachte Haut wird der absolute Alkohol, außer seinen anderen, im Vorhergehenden erwähnten Wirkungen, zugleich einen kräftigen bakteriziden Einfluß ausüben.

Weder unter den Haut- noch unter den Ekzembakterien fand ich eine einzige sporenbildende Art; meine Versuche befassen sich also nur mit vegetativen Zellen.

Aus Pasteurs und namentlich aus Kochs Untersuchungen geht hervor, daß die Sporen des Milzbrandbacillus eine sehr lange dauernde Behandlung mit Alkohol in allen Konzentrationen aushalten können; nach Koch bleiben diese Sporen selbst nach mehr als 110-tägiger Einwirkung noch am Leben und sind vielleicht durch Alkohol überhaupt gar nicht zu töten. Die späteren Forscher sind zu demselben Hauptresultat gekommen, auch in betreff der Sporen des *Bacillus subtilis*. Die Literatur betreffend diese wie auch die übrigen im gegenwärtigen Abschnitte behandelten bakteriologischen Fragen finden sich in Russ' Abhandlung verzeichnet.

III.

Aus Russ' Abhandlung ist ersichtlich, daß meine medizinischen Vorgänger ihre Versuche mit anderen Bakterienvegetationen angestellt haben als ich. Einige dieser Forscher kamen zu den nämlichen Hauptresultaten, die ich im Vorhergehenden rücksichtlich der Haut- und Ekzembakterien hervorgehoben habe, und möchte ich annehmen, daß deren Richtigkeit jetzt als festgestellt angesehen werden darf. Die Uneinigkeit, welche über verschiedene Punkte in der Literatur mehrfach zum Ausdruck kommt, findet ihre Erklärung in dem Umstande, daß die Versuche nicht in allen Fällen mit der erforderlichen Umsicht angestellt wurden. Es stellen sich hier praktische Schwierigkeiten entgegen, und kleine Fehlerquellen können bewirken, daß man das eine Mal ein ganz anderes Resultat bekommt als das andere Mal. Besonders die Darstellung von Vertrocknungspräparaten bietet große Schwierigkeiten. Wenn man z. B. nach dem Vorgang der meisten Autoren bei diesen Versuchen sich Seidenfäden bedient, so werden die Zellen sich zusammenballen, und aus diesem Grunde das Resultat unsicher werden.

Bei meinen oben beschriebenen Versuchen über Haut- und Ekzembakterien benutzte ich denn auch ein anderes Verfahren¹⁾. Die nachfolgenden Versuche bezwecken vor allen Dingen, dieses Verfahren in seinen Einzelheiten näher zu beleuchten, um dadurch Beiträge zu einer exakten Methodik auf diesem Gebiete geben zu können. Dieselben wurden mit zwei Formen von Bakterien, der Coli-Gruppe und einer Essigsäurebakterie, *Bact. Pasteurianum*, angestellt²⁾.

Bei meinen Versuchen über Haut- und Ekzembakterien wurde das Eintrocknen bei gewöhnlicher Zimmertemperatur vorgenommen, um den in der Praxis bestehenden Verhältnissen möglichst nahezukommen. Bei den jetzt zu beschreibenden Versuchen dagegen nahm ich ebenso wie Russ das Eintrocknen bei hoher Temperatur vor, teils weil man auf diese Weise

1) Nur Minervini benutzte ungefähr zur derselben Zeit wie ich auch Metalldrahtstücke zu diesen Versuchen; man schenkte aber dieser Verbesserung der Technik keine Aufmerksamkeit.

2) Beide Coli-Bakterien rühren vom Menschendarm her, und Reinkulturen davon wurden mir von Herrn Prof. Dr. C. O. Jensen gütigst überlassen. Auch an dieser Stelle möchte ich ihm dafür bestens Dank sagen.

Bact. Pasteurianum ist eine bereits im Jahre 1878 von mir aufgestellte Art (*Comptes rendus des trav. du laborat. de Carlsberg*. T. I. Livr. 2), welche ich nachher zu Untersuchungen über verschiedene biologische und technische Fragen angewendet habe (eben dieselbe Zeitschrift 1894 und 1900). Diese Art ebenso wie auch die anderen von mir in der Literatur eingeführten Arten ist von Dr. Králs Bakteriolog. Laboratorium in Prag erhältlich.

Bezüglich der in meinem Laboratorium abgehaltenen Unterrichtskurse in den betreffenden Methoden ergreife ich hier gleichfalls die Gelegenheit, um mitzuteilen, daß ein solcher nur einmal im Jahre abgehalten wird. Derselbe beginnt am 20. August und dauert 4–6 Wochen. Er ist für weiter Vorgeschrittelte berechnet, welche wissenschaftliche Vorbildung besitzen (Physiologen, Bakteriologen, Botaniker und Chemiker).

schneller arbeitet, teils auch weil ich den Zweck verfolgte, einen Vergleich mit den von ihm beschriebenen Untersuchungen zu machen.

Bei dem Eintrocknen erstrebt man, das Wasser zu entfernen, bis zu der Grenze, wo der Tod eintreten würde, wenn man weiter ginge. Wenn man den Prozeß in zu weiter Entfernung von dieser Grenze abbricht, dann werden die Zellen in der Tat nicht getrocknet, und ihr Wassergehalt kann dann noch immer so bedeutend sein, daß der Alkohol eben deshalb bis zu dem Plasma eindringen und den Tod verursachen kann. In einem auf die rechte Weise hergestellten Eintrocknungspräparat werden daher einige der Zellen abgetötet sein, während der größere Teil noch immer am Leben geblieben ist. Bei meinen Versuchen wurde stets nach diesem Prinzip gearbeitet.

Versuche mit *Bact. coli*.

20 seidene Fäden, welche 3 cm lang waren, wurden 1 Stunde lang in eine junge, kräftige Vegetation in Fleischwasserpepton gelegt und dann in Petri-Schalen gebracht, wo sie einem 3-stündigen Eintrocknen bei ca. 37° C ausgesetzt wurden. Die so getrockneten Vegetationen wurden dann 1 Minute in Alkohol in wohlverschlossenen Kölbchen gehalten, danach in sterilem Wasser abgespült und jeder Faden für sich samt der ihm anhaftenden Vegetation zwecks Züchtung bei 37° C in ein Kölbchen mit Fleischwasserpepton gebracht. Das befolgte Verfahren war durchaus das von Russ angegebene.

Zum Vergleich hiermit wurde ein ähnlicher Versuch mit Hilfe der schon vorher erwähnten Platindrahtstücke angestellt, also so, daß die Zellen gut ausgebreitet wurden. Das Eintrocknen und die Züchtungsprobe auf Leben wurden auf dieselbe Weise ausgeführt, wie bei den Vegetationen an den Seidenfäden. Bei einem solchen starken Ausbreiten der Zellen, wie es in diesem Falle stattfindet, wird es immer geschehen, daß eine größere oder geringere Anzahl derselben während der Eintrocknung abgetötet wird. Man muß deshalb eine besondere Probe machen, um zu ermitteln, wie viele der eingetrockneten Vegetationen noch am Leben waren, als sie der Einwirkung des Alkohols ausgesetzt wurden. Der Versuch wurde daher auf zwei Reihen verteilt, von denen jede 40 eingetrocknete Vegetationen umfaßte. Mit der einen Gruppe, A, wurde die Züchtung sogleich begonnen; die zweite Gruppe, B, wurde zuerst 1 Minute in Alkohol behandelt, sodann erfolgte das Abspülen in sterilem Wasser, endlich die Züchtung zwecks Probe auf Leben.

Die 20 Vegetationen an den Seidenfäden ergaben schon nach weniger als 24 Stunden eine deutliche Entwicklung der ausgesäten Bakterie.

Von den 40 Vegetationen der Gruppe A ergaben 38 nach weniger als 14 Tagen Entwicklung. Zwei waren also bei der Eintrocknung abgetötet worden.

Unter den 40 Vegetationen der Gruppe B zeigte nach 14 Tagen keine einzige auch nur das geringste Zeichen von Entwicklung. Der Alkohol hatte also alle diejenigen Zellen, welche die Eintrocknung überlebt hatten — d. h. wie dies aus dem Versuche A hervorgeht, die weitaus überwiegende Anzahl — getötet. Das Ergebnis war also das entgegengesetzte von dem, welches der Versuch mit den seidenen Fäden brachte.

In Bezug auf diesen sowie auf die übrigen Versuche ist hervorzuheben, daß den Ausgangspunkt eine junge kräftige Vegetation bildete, und daß trotz der Dünnhcit der Schicht, in welcher die Vegetation an den Platindrahtstücken ausgebreitet wurde, dennoch in jedem Kölbchen mit einer sehr großen Anzahl von Zellen gearbeitet wurde.

Einen weiteren Versuch stellte ich auf genau dieselbe Weise mit einer, mit der oben genannten Art nahe verwandten Form an. Diese zeichnete sich dadurch aus, daß sie im Verlaufe ihres Wachstums die Fleischwasserpeptonflüssigkeit stark schleimig machte. Hier zeigte es sich, daß die über die Platindrähte, sowie über die Innenwand und den Boden der Kölbchen stark ausgebreiteten Zellen sich in ihrem eingetrockneten Zustande wie die an den seidenen Fäden eingetrockneten verhielten: Sie waren in allen Fällen am Leben nach einer 1 Minute dauernden Behandlung mit Alkohol. Es ist anzunehmen, daß bei dieser Form die Schleimhülle eine gegenüber der abtötenden Einwirkung sowohl der Eintrocknung als auch des Alkohols beschirmende Schicht gebildet hat.

Versuche mit *Bact. Pasteurianum*.

Um die angeregten methodischen Fragen weiter zu beleuchten, zog ich in diese Versuche auch die in der Ueberschrift genannte Essigsäurebakterie mit ein. Den günstigsten Nährboden für diese Art bildet Doppelbier. Es ist dies eine extraktreiche obergärige Biersorte, welche nach Sterilisation ca. 1 Vol.-Proz. Alkohol enthält. An der Oberfläche dieses Bieres entwickelte sich eine kräftige Haut mit Zoogloeabildung, welche von einer zähen und manchmal außerdem von mehr oder weniger knorpelartiger Beschaffenheit ist. Eine günstige Temperatur ist 33° C. Die Züchtungen wurden auf der eben genannten Nährflüssigkeit und bei der genannten Temperatur von 33° C vorgenommen. Das Eintrocknen wurde im Verlaufe von 2½ Stunden bei der nämlichen Temperatur bewerkstelligt. Im übrigen wurde der Versuch in der vorher beschriebenen Weise ausgeführt. Auch bei dem jetzt zu beschreibenden Versuche werden die Vegetationen, welche nur eingetrocknet wurden, mit A bezeichnet, und diejenigen, welche außerdem 1 Minute mit Alkohol behandelt wurden, mit B.

Die Vegetationen an den 20 Seidenfäden gaben sämtlich Ausschlag auf Leben.

Die 40 zu A gehörenden Vegetationen waren ebenfalls alle am Leben.

Unter den 40 zu B gehörenden wurden 25 getötet. Die Alkoholbehandlung hat also hier eine deutlich abtötende Wirkung auf einen großen Teil der getrockneten Vegetationen ausgeübt. Wenn dennoch 15 das Leben bewahrten, so muß dies darauf zurückzuführen sein, daß trotz der Ausbreitung die Zellschicht so dick gewesen ist, daß einige der Zellen im Innern der Schicht sich der Einwirkung des Alkohols haben entziehen können.

Um auch von dieser Art eine Vegetation zu erhalten, deren Zellen sich in so dünnen Schichten ausbreiten ließen, daß jede einzelne Zelle der Einwirkung des Alkohols zugänglich gemacht werden könnte, stellte ich einen zweiten Versuch an, zu welchem ich die Aussaat einer Kultur in einer aus Hefewasser mit 10 Proz. Dextrose und 1½ Proz. Alkohol bestehenden Lösung entnahm. Die hier gezüchteten Zellen ließen sich nämlich mit größerer Leichtigkeit voneinander trennen und in sehr dünnen Schichten ausbreiten. Da die Vegetationen an den Seidenfäden nach 2½-stündigem Stehenlassen bei 33° C noch nicht gänzlich eingetrocknet waren, wurde das Eintrocknen ein wenig über 3 Stunden fortgesetzt. Im übrigen war das Verfahren das gleiche wie beim vorhergehenden Versuche.

Auch hier gaben die Vegetationen der 20 Seidenfäden sämtlich Ausschlag auf Leben.

Desgleichen gaben alle 40 Vegetationen der Gruppe A Entwicklung.

Unter den 40 Vegetationen der Gruppe B war dies aber nur bei 5

der Fall. Die 35 eingetrockneten Vegetationen waren also nach einer 1 Minute langen Einwirkung des Alkohols getötet worden, ein Zeichen dafür, daß die Ausbreitung hier gründlicher gewesen ist als bei dem ersten Versuche.

Schließlich stellte ich noch einen dritten Versuch an mit derselben Bakterienart und auf dieselbe Weise wie beim vorhergehenden Versuche, nur mit dem Unterschied, daß anstatt absoluten Alkohols Alkohol von 82 Proz. angewendet wurde.

Das Ergebnis war, daß sämtliche 20 Vegetationen der Seidenfäden gleich wie die 40 Vegetationen der Gruppe A sich am Leben hielten, während die 40 Vegetationen der Gruppe B sämtlich getötet wurden. Also hatte auch der 82-proz. Alkohol die eingetrockneten Zellen in den dünnen Schichten getötet.

Bei den Versuchen mit *Bact. Pasteurianum* trat die Entwicklung in den zu A gehörenden Kölbchen nach Verlauf von 3—13 Tagen ein, wogegen in den zu B gehörenden Kölbchen die Entwicklung erst nach Ablauf von 6—45 Tagen sich zeigte. Die Behandlung mit Alkohol hat demnach bei dieser Art, ebenso wie bei der einen Form des *Bact. coli* nicht nur bewirkt, daß eine große Anzahl der eingetrockneten Zellen abgetötet wurde, sondern auch, daß die Entwicklung in den Fällen, wo sie überhaupt stattfindet, sehr langsam vor sich geht. Es läßt sich nämlich kaum denken, daß diese langsame Entwicklung lediglich darin ihren Grund habe, daß der Alkohol den größten Teil der Zellen getötet hätte, aber die konstatierte Erscheinung wird unzweifelhaft auch noch darauf zurückzuführen sein, daß bei einigen Zellen der Alkohol nur in sehr geringem Maße in das Plasma eingedrungen ist und somit nicht den Tod hat hervorrufen können, wohl aber eine dermaßen starke Abschwächung, daß die Vermehrung erst nach lange andauernder Züchtung ihren Anfang hat nehmen können.

Allgemeine Ergebnisse der Untersuchungen für die Methodik.

Die hier beschriebenen Versuche über zwei Formen von *Bact. coli* und über die genannte Essigsäurebakterie zeigen also in Uebereinstimmung mit den Angaben von Russ und meinen übrigen medizinischen Vorgängern, daß die an den seidenen Fäden eingetrockneten vegetativen Zellen die beschriebene Behandlung mit Alkohol ohne Schwierigkeit vertragen können. Wenn man sich auf die Frage beschränkt, wie solche dicken Zellschichten sich verhalten, läßt sich auch nichts gegen diese Versuchsanordnung einwenden. Anders stellt sich dagegen die Sache, wenn man die Frage aufwirft, wie die einzelne Zelle sich verhält; dann ist dieses Verfahren unanwendbar. Im letzteren Falle ist, wie wir gesehen haben, eine Methode erforderlich, durch welche die Zellen sich in so dünnen Schichten ausbreiten lassen, daß jede einzelne Zelle von dem Gift beeinflusst wird.

Von Wichtigkeit in methodischer Beziehung ist weiter die Frage, wie lange man die Züchtung fortzusetzen hat, welche vorgenommen wird, um zu ermitteln, ob die betreffenden Zellen lebend sind oder nicht. Russ schließt diese Züchtung nach 48 Stunden ab. Daß dies für einige Arten richtig sei, will ich nicht in Abrede stellen, aber im allgemeinen kann man sich nicht darauf beschränken. Auch bei solchen Arten, für welche das Fleischwasserpepton eine besonders

günstige Nährflüssigkeit darstellt, und die deshalb auch in demselben gezüchtet wurden, fand ich, daß bisweilen erst nach 10-tägiger Züchtung bei der günstigen Temperatur eine Entwicklung bemerkbar wurde. Diese Versuche wurden daher erst nach dem Verlauf von 14 Tagen zum Abschluß gebracht. Die Versuche mit *Bact. Pasteurianum* liefern uns ein bemerkenswertes Beispiel von einer langsamen Entwicklung: Hier liegt die Grenze sogar bei nahezu 50 Tagen. Es werden hier stets die für die betreffende Art günstigsten Züchtungsverhältnisse vorausgesetzt, und unter Entwicklung ist eine mit dem bloßen Auge erkennbare Vermehrung zu verstehen.

Aus den Versuchen seiner Vorgänger mit verschiedenen Bakterien, sowie aus seinen eigenen Versuchen mit *Bact. coli*, *Staphylococcus pyogenes aureus*, *Bacillus anthracis* und *Bacillus diphtheriae* zieht Russ den Schluß, daß „Alkohol ohne oder fast ohne Wasserzusatz auf trockene Bakterien weder eine entwicklungshemmende, noch eine abtötende Wirkung ausübe“. Soweit meine Versuche gehen, wird dieser Satz wohl auch für die eine der geprüften *Bact. coli*-Formen einige Gültigkeit haben, und ein Gleiches läßt sich auch von der anderen *Bact. coli*-Form sowie vom *Bact. Pasteurianum* sagen, wenn die Vegetationen an seidenen Fäden, also in dicken Schichten, eingetrocknet wurden, aber auch nur mit dieser Einschränkung. Wenn dagegen die scharfe Methode den beiden letztgenannten gegenüber angewendet wurde, stellte es sich gerade deutlich heraus, daß der Alkohol auch auf die eingetrockneten Bakterienzellen eine abtötende Wirkung ausübt. Dem oben angeführten Satze kommt demnach keine Gültigkeit zu.

IV.

Im gegenwärtigen Abschnitte wird die Einwirkung des Aethylalkohols auf die *Saccharomyces*-Zellen behandelt. Es liegen in dieser Richtung Untersuchungen von Claude Bernard und Kurzwelly vor¹⁾.

Claude Bernard wurde durch seine Betrachtungen des latenten Lebens zu diesen Untersuchungen geführt. Er definiert dasselbe als den indifferenten chemischen Zustand des Organismus, und als den wichtigsten Faktor zum Hervorrufen dieses Zustandes nennt er das Eintrocknen. Gegen Tiedemann und andere Physiologen behauptet er, daß man das latente Leben nicht als ein Leben betrachten könne, das nur derart attenuiert wäre, daß seine Aeüßerungen der Beobachtung entgehen. Er ist der Ansicht, daß infolge der Eintrocknung das Plasma jede chemische Tätigkeit aufgeben und in dieser Beziehung der Einwirkung der Umgebungen vollständig entzogen werden könne, ohne gleichzeitig das Leben einzubüßen.

Damit man sich diesen absolut indifferenten chemischen Zustand denken könnte, müßte das Plasma die letzte Spur von Wasser verloren haben; wenn wir aber, selbst bei der größten Vorsicht, das Eintrocknen genügend lange fortsetzen, gelangen wir stets zu einem Punkt, wo der Tod eintritt. Nach Claude Bernard müßte man sich dagegen zunächst denken, daß unter diesen Verhältnissen die Zelle in einen Zustand gebracht würde, wo das Leben ins unendliche fortgesetzt würde; dieses geschieht aber, wie oben erwähnt, nicht.

Er benutzte zu seinen Versuchen hauptsächlich Bierhefe. „Wenn man“, sagt er, „etwas in voller Kraft befindliche Hefe nimmt und einer

1) Claude Bernards Werk trägt den Titel: *Leçons sur les phénomènes de la vie*. T. I. Paris 1878. Kurzwellys Abhandlung ist im Vorhergehenden zitiert.

allmählichen Eintrocknung unterwirft, dann werden die Hefezellen in einen Zustand latenten Lebens übertragen werden, in welchem man sie dann einer sehr hohen Temperatur und einer fortgesetzten Einwirkung von Alkohol aussetzen kann, ohne daß sie sterben. Wenn man sie nämlich wieder unter günstige Lebensverhältnisse bringt, so werden sie von neuem belebt, und entwickeln sich wieder.“ Als Ergebnis seiner Untersuchung teilt er mit, daß, während frische Bierhefe im feuchten Zustande sich in absolutem Alkohol nur 3—4 Tage lebend erhielt, dieselbe Hefe dagegen in eingetrocknetem Zustande unter diesen Umständen das Leben $1\frac{1}{2}$ Jahre lang bewahrte.

Kurzwelly benutzte ebenfalls Brauereihefe zu seinen Versuchen; soweit ich sehen kann, war es eine Unterhefe. Hieraus stellte er eine Reinkultur dar, deren Züchtung er dann auf Agarnährboden mit 7 Proz. Traubenzucker in Petri-Schalen fortsetzte, und als sich hier eine genügende Hefemasse gebildet hatte, wurde diese auf Streifen von Filtrierpapier geschmiert. Diese Filtrierpapierstreifen mitsamt der so aufgeklebten Hefe wurden in dem einen Falle gleich darauf in absoluten Alkohol gebracht, und er teilt mit, daß die Hefe nach einem Zeitraum von 3 Tagen noch immer am Leben war.

In dem zweiten Teile seines Versuches legte er solche Filtrierpapierstreifen nebst der aufgeschmierten Hefe auf 2 Wochen und mehr in einen Exsiccator; in seiner Tabelle gibt er 16 Tage an. Das Papier samt der hierdurch eingetrockneten Hefe wurde dann in absoluten Alkohol gebracht, und das Ergebnis war, daß die Zellen, nachdem sie in dieser Flüssigkeit 363 Tage zugebracht hatten, noch immer lebend waren. Der Kürze halber wird im folgenden absoluter Alkohol, wie früher, einfach durch das Wort Alkohol bezeichnet.

Laut Claude Bernards Angabe soll also die feuchte Brauereihefe sich 3—4 Tage in Alkohol lebend erhalten. Dies widerstreitet durchaus den Versuchen, welche ich, als ich sein Werk las, mit Hefe sowohl in dünnen als auch in ziemlich dicken Schichten gemacht hatte. Die Zellen starben nämlich nach weniger als 1 Minute ab. Seiner Beschreibung nach müßte man indes zunächst annehmen, daß er mit sehr dicken Hefeschichten gearbeitet habe. Unter diesen Umständen ließe es sich ja wohl denken, daß der Alkohol so einwirken könnte, daß sich eine schirmende Außenschicht bildete und dadurch einige der drinnen befindlichen Zellen der Wirkung des Giftes entzogen würden. Um zu untersuchen, ob mein berühmter Vorgänger doch nicht von diesem Gesichtspunkte aus Recht haben könnte, stellte ich einige Versuche an mit sehr dicken Hefeschichten, ganzen Hefeklümpchen, bestehend aus Carlsberg Unterhefe No. 1 und aus einer obergärigen Brauereihefe sowie aus einer Bäckereioberhefe; in allen Fällen ergab es sich aber, daß die Zellen in viel kürzerer Zeit als 3 Tagen abgetötet wurden. Hiernach muß ich den Schluß ziehen, daß Claude Bernard nur einen einzigen Versuch angestellt habe, und daß er in der Ausführung unglücklich gewesen sei. Zunächst möchte man wohl annehmen, daß die in Alkohol unterzubringenden Zellen sich an den Hals des betreffenden Kolbens oberhalb der Flüssigkeit festgeklebt und sich hier der Einwirkung des Giftes entzogen hätten.

Was die zweite Angabe von Claude Bernard anbelangt, so kann ich deren Richtigkeit teilweise bestätigen; die eingetrockneten Zellen können eine viel längere Einwirkung des Alkohols aushalten als die feuchten Zellen. Claude Bernard hat indessen nicht gesehen, daß auch bei dieser Versuchsanordnung der Alkohol nach und nach die Zellen angreift und zuletzt jede Spur von Leben auslöscht.

Kurzwelly fand, wie man sich erinnern wird, daß feuchte Hefezellen eine mehr als 3-tägige Einwirkung von Alkohol aushielten. Dieses schien also eine Bestätigung des Ergebnisses zu sein, zu welchem Claude Bernard gekommen war. Eine nähere Prüfung zeigt jedoch, daß es sich nicht so verhält.

Bei meinen Versuchen, Methoden zur Aufbewahrung der reingezüchteten Hefe in getrocknetem Zustande darzustellen, kam ich auf die Idee, daß eine Gelatineeinhüllung, wenn sie getrocknet würde, wohl bewirken müßte, daß die Zellen einer darin eingeschlossenen getrockneten Hefemasse in den Stand gesetzt würden, schädlichen Eingriffen von außen her, so auch von seiten des Alkohols, zu widerstehen, und daß hierdurch das Leben überhaupt verlängert werden würde. Die bisher von mir angestellten Versuche gehen auch alle in dieser Richtung. Es wird ihrer in einer weiteren Abhandlung über die Lebensgrenze der Hefearten in der vorgenannten Zeitschrift des Laboratoriums eingehender erwähnt werden. Meine Aufmerksamkeit richtete ich also zunächst auf das gelatinöse Nährsubstrat. Bei Kurzwellys hier erwähnten Versuchen wurde keine Eintrocknung vorgenommen, daher auch nicht bei meinen kontrollierenden Versuchen. Ich benutzte Carlsberg Unterhefe No. 1 sowie den von Aderhold und Wortmann in der Literatur eingeführten Weinhefepilz Johannisberg II. Die Züchtung erfolgte nicht nur, den Angaben Kurzwellys gemäß, auf Fleischwasserpeptonagar, welches in dem einen Falle mit Dextrose und in dem anderen mit Saccharose versetzt war, sondern außerdem auch noch auf Würzelatine. Im übrigen wurden die Anweisungen Kurzwellys befolgt. Es zeigte sich dann, daß unter den 30 angewandten auf Papierstreifen geschmierten Hefemassen 5 eine 3-tägige Einwirkung von Alkohol aushielten, während eben dieselbe Hefe aus einer Züchtung in Bierwürze stammend, also ohne irgendwelche gelatinöse Einhüllung, sowohl in dünnen als in dicken Schichten, stets lange vor Ablauf dieses Zeitraumes abgetötet worden war. Nach Kurzwellys Versuchsanordnung kann man also dann und wann eine Hefemasse erhalten, welche die Alkoholbehandlung zu vertragen scheint; dies ist aber darauf zurückzuführen, daß die Zellen infolge der vorhandenen Einhüllung in Agar-Agar und Gelatine der Einwirkung des Giftes entzogen worden sind. Wenn man die Behandlung einige Tage länger fortsetzt, dringt der Alkohol zu den Zellen hinein und tötet sie.

Was bei der Erwähnung von Claude Bernards Versuchen von dem Verhalten der eingetrockneten Zellen dem Alkohol gegenüber gesagt wurde, gilt auch von Kurzwellys diesbezüglichen Versuchen.

Es wurde lange vergeblich mit Hilfe des Mikroskopes nach gallertartigen Bildungen bei Hefezellen gesucht; im Jahre 1885 (Botan. Centralblatt. Bd. XXI) wies ich aber nach, daß die Hefezellen mit einer Schleimbildung versehen sind, welche bei einer gewissen Präparation als ein gelatinöses Netzwerk erscheint. Dieselben besitzen hierin ein Schutzmittel gegen verschiedenartige Angriffe, im vorliegenden Falle gegen die Einwirkung der Vertrocknung und des Alkohols¹⁾. Ich fand ebenfalls, daß dieser Schleim wenigstens zum großen Teil sich durch Auswaschen

1) Bei der Erwähnung dieser Schleimbildung hat Kurzwelly eine unrichtige Darstellung von der Stellung de Barys dieser Frage gegenüber gegeben. Er hat weder meine noch Wills diesbezüglichen Arbeiten gekannt. Nachdem dies von Klöcker in dem gegenwärtigen Centralblatte. Abt. II. Bd. XIV. 1905. p. 753 erörtert worden ist, beschränke ich mich auf den Hinweis.

entfernen läßt, und daß dann die auf diese Weise behandelten Zellen einen bedeutend geringeren Widerstand als sonst gegen derartige nachteilige Einwirkungen leisten.

Es wurde oben betont, welch großen Unterschied die Bakterien bezüglich des Widerstandsvermögens der vegetativen Zellen und andererseits der Sporen dem Alkohol gegenüber zeigen.

Hierdurch wurde ich veranlaßt, der Frage näherzutreten, ob man nicht mittels der Alkoholbehandlung vielleicht in den Stand gesetzt werden würde, auch in *Saccharomyces*-Vegetationen die vegetativen Zellen zu töten, so daß nur allein die Sporen im lebenden Zustande übrig bleiben würden. Dieses hat bei verschiedenen Untersuchungen eine große Bedeutung und ist namentlich in zwei Punkten bei meinen Studien über Variation und Erblichkeit in Frage gekommen. So ist es bei den Untersuchungen über die Asporogenität von größter Wichtigkeit, zu ermitteln, ob sämtliche Zellen einer Vegetation vollkommen asporogen sind oder nicht, ob es nicht unter den Tausenden von Zellen, mit welchen man arbeitet, vielleicht eine einzelne gäbe, welche noch immer sporogen geblieben wäre; endlich bei den Untersuchungen über die Erscheinung der Ober- und Untergärung in dem Punkte, wo es sich darum handelte, eine reiche, aber vollständig reine Sporenfruktifikation, frei von jeder Einmischung vegetativer Zellen, darzustellen. Bei den Bakterien erzielt man alles dieses leicht, nicht nur mittels der oben erwähnten Alkoholbehandlung, sondern auch durch Erwärmung; es ist bei diesen Organismen ein großer Unterschied zwischen dem, was die Spore, und andererseits dem, was die vegetative Zelle in diesen Beziehungen vertragen kann. Bezüglich der auf *Saccharomyces*-Zellen angewandten Erwärmung zeigten schon meine Untersuchungen im Jahre 1883 (Compt. rend. des travaux du laborat. de Carlsberg. T. II. Livr. 2), daß die völlig reifen Sporen ein und derselben Art wohl eine stärkere Erwärmung vertragen als die jungen vegetativen Zellen; es ergab sich aber zugleich, daß die vegetativen Zellen im höheren Alter bedeutend mehr vertragen können, als die jungen Zellen, wodurch der Unterschied zwischen vegetativen Zellen und Sporen nach und nach verwischt wird, so daß alles unsicher wird. Auch hat man bisher auf keinem anderen Wege ein sicheres Resultat erreichen können.

Bei meinen Untersuchungen über Asporogenität habe ich besonders mit dem oben erwähnten Weinhefepilz *Johannisberg II* gearbeitet, und wurde derselbe daher auch für die Versuche ausgewählt, welche zum Zweck hatten, mit Hilfe der Alkoholbehandlung eine den eben erörterten Anforderungen genügende Methode zu erfinden. Die angewendeten Vegetationen wurden in Bierwürze gezüchtet. Wenn von jungen Zellen die Rede ist, ist darunter eine einer 1—2-tägigen Kultur bei 25° C entstammende Zucht zu verstehen; alte Zellen bedeutet eine 14—30-tägige Zucht bei gewöhnlicher Zimmertemperatur. Die Sporen wurden nicht aus Gipsblockkulturen entnommen, sondern aus Kulturen in einer dünnen Schicht destillierten Wassers in Freudenreich-Kölbchen mit losen baumwollenen Pfropfen. Diese Züchtung wurde bei 25° C vorgenommen und dauerte gewöhnlich 6—9 Tage; die Sporen sind dann zur völligen Reife gelangt.

In den wenigen Fällen, wo mit jungen Sporen Versuche angestellt wurden, ist dies ausdrücklich hervorgehoben, und die letzteren stammten dann aus Wasserkulturen, welche nur 2—4 Tage bei der genannten Temperatur gestanden hatten. Der Grund, warum die gewöhnliche Züchtung auf Gipsblöcken¹⁾ nicht benutzt wurde, ist der, daß sich hier

1) An verschiedenen Stellen in meinen Abhandlungen über die Alkoholhefepilze

eine Zoogloeamasse bilden kann, welche bewirkt, daß die einzelnen Zellen sich nicht voneinander trennen lassen. Hierdurch werden dann einige der Zellen sich der Einwirkung des Alkohols entziehen können.

Das Resultat von 15 Versuchsreihen war, daß sowohl alte als junge vegetative Zellen nach einem Aufenthalt von 1 Minute sowohl in absolutem Alkohol als in 50-proz. Alkohol getötet wurden; die jungen Sporen verhielten sich in der gleichen Weise wie die vegetativen Zellen, während dagegen die völlig reifen Sporen sich unter diesen Umständen weit mehr als 1 Minute lebend erhielten. Hier haben wir also eine Methode erfunden, welche es uns ermöglicht, in einer Mischung von Sporen und vegetativen Zellen diese letzteren zu töten ohne gleichzeitig die Sporen in merklichem Grade zu schädigen. In der Regel habe ich zu diesem Zwecke absoluten Alkohol benutzt.

Die beschriebenen Versuche wurden, wie man sich erinnern wird, mit den Zellen in ihrem feuchten Zustande angestellt; zum Vergleich hiermit unternahm ich noch Versuche mit getrockneten Zellen. Der Eintrocknungsprozeß fand auf die oben beschriebene Weise in Freudenreich-Kölbchen mit Hilfe von Platindrahtstücken statt. Sowohl die Sporen als die vegetativen Zellen sind unter diesen Umständen nach $2\frac{3}{4}$ Stunden bei 38° , und nach $5\frac{1}{2}$ Stunden im Exsiccator bei gewöhnlicher Zimmertemperatur eingetrocknet. Bei allen diesen Verfahren erwiesen sich die Zellen als vollständig eingetrocknet, und konnte ich bei den Züchtungsproben konstatieren, daß die meisten von ihnen das Leben bewahrt hatten. Indem in einigen wenigen der Kölbchen die gesamte Vegetation getötet war, war hieraus zur Evidenz ersichtlich, daß die gewünschte Grenze für die Vertrocknung erreicht war.

Die so getrockneten vegetativen Zellen konnten eine über 2 Minuten dauernde Einwirkung von absolutem Alkohol, aber nicht eine 1 Minute währende Einwirkung von 50-proz. Alkohol vertragen. Die Regel schien die zu sein, daß der Tod nach 5 Minuten Aufenthalt in absolutem Alkohol eintrat. Die getrockneten Sporen erhielten sich in absolutem Alkohol über 6 Tage am Leben, waren aber in 50-proz. Alkohol nach weniger als 3 Tagen getötet. Das Resultat war, daß durch die Eintrocknung die Widerstandsfähigkeit der Zellen gegenüber der Alkoholbehandlung in allen Fällen erhöht wird; auch unter diesen Umständen ist die Widerstandsfähigkeit der Sporen größer als die der vegetativen Zellen. 50-proz. Alkohol hat eine schneller tötende Wirkung als absoluter Alkohol. Eine Methode wie die oben erwähnte kann man also auch dadurch erhalten, daß man die getrockneten Zellen als Ausgangspunkt nimmt; da aber die Arbeit hierdurch nur umständlicher werden würde, habe ich bei meinen vorerwähnten Untersuchungen über Variation und Erblichkeit die oben beschriebene Form der Methode mit der feuchten Vegetation als Ausgangspunkt befolgt.

Nachdem also die gewünschte Methode für den genannten Weinhefe-pilz gefunden war, erhob sich die Frage, ob derselben für die Saccharomyceten im allgemeinen Gültigkeit zukommt. Ich fand bald eine andere Art, nämlich eine Preßhefe, bei welcher die Methode sich auch als vollkommen genügend erwies, danach aber eine Reihe Arten, welche in irgend einer Beziehung Ausnahmen bildeten. So befanden sich unter

habe ich meine Methoden zur Sporenzüchtung beschrieben. Klöcker hat in seinem Buche „Die Gärungsorganismen“. 2. Aufl. Stuttgart 1906 eine übersichtliche Zusammenstellung gegeben.

16 Arten 4, deren vegetative Zellen eine über 1 Minute dauernde Einwirkung von Alkohol überlebten, und fand ich ziemlich häufig Arten, deren Sporen die in Rede stehende Einwirkung 1 Minute hindurch nicht aushielten. Diese Ausnahmen kamen nicht nur unter den Kulturhefenarten und den lange Zeit hindurch im Laboratorium aufbewahrten wilden Hefen vor, sondern zugleich bei wilden Hefenarten, welche aus der freien Natur vor kurzem eingefangen worden waren. Wir haben hier wieder eine Bestätigung der alten Regel, daß die Arten den äußeren Faktoren gegenüber verschieden reagieren.

In der beim nässenden Ekzem vorkommenden aufgelösten und schleimigen Haut finden sich nicht nur Bakterien, sondern bisweilen auch Hefezellen, welche letzteren jedoch nur als rein zufällige Gäste auftreten. Insoweit hat also der gegenwärtige Abschnitt mit der Frage nichts zu tun, welche mich ursprünglich dazu veranlaßte, die vorliegenden Untersuchungen in Angriff zu nehmen. Gleichgültig für die medizinische Literatur sind die Hefen jedoch nicht; dieselben spielen vielmehr seit einigen Jahren eine immer größere Rolle, und zwar nicht nur in theoretischer, sondern auch in rein praktischer Hinsicht. So liegen jetzt eine beträchtliche Anzahl Mitteilungen darüber vor, wie die Hefezellen bei verschiedenen Gelegenheiten als Krankheitserreger auftreten können. Von diesem Gesichtspunkte aus habe ich mir gedacht, daß die beschriebenen Versuche über die Einwirkung des Äthylalkohols auf die Hefezellen passend ihren Platz neben meinen vorhergehenden Versuchen über die Bakterien fänden.

Bei den vielen Analysen sind mir meine Assistenten, die Herren Klöcker und Schiöning, in bester Weise an die Hand gegangen, und spreche ich ihnen auch an dieser Stelle meinen Dank aus.

Allgemeine Ergebnisse der Untersuchungen über Hefen.

Die im vorigen Abschnitte über die Bakterien beschriebene scharfe Methodik hat sich also auch für *Saccharomyces* als gültig erwiesen.

Mit Hilfe derselben wurde die oben besprochene Methode zur vollständigen Befreiung der Sporenfruktifikationen von deren Einmischung vegetativer Zellen ausgearbeitet.

Die im gegenwärtigen Abschnitte mitgeteilten Untersuchungen haben im übrigen gezeigt, daß die für die Bakterien gefundenen Hauptsätze auch für *Saccharomyces* Gültigkeit haben. Es ergibt sich, daß der Hauptunterschied zwischen den beiden Gruppen von Mikroorganismen, soweit gegenwärtiges Gebiet in Betracht kommt, darin besteht, daß die vegetativen Zellen der *Saccharomyces*-Arten in getrocknetem Zustande und die Sporen sowohl in getrocknetem als auch in feuchtem Zustande eine geringere Widerstandsfähigkeit dem Alkohol gegenüber besitzen, als die bei den Bakterien gefundene.

Carlsberg Laboratorium, Kopenhagen, August 1907.

Inhalt.

De Favis, C., Einfluß der Toxine des Pestbacillus auf die Kreislauforgane, p. 348.

Dieterlen, F., Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktus, p. 385.

Hansen, Emil Chr., Ueber die tödende Wirkung des Äthylalkohols auf Bakterien und Hefen, p. 466.

Kraus, B. und Russ, V. K., Ueber Toxine

u. Antitoxine des Cholera vibrio. (Schluß), p. 417.

Reitz, Adolf, Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren). (Schluß), p. 451.

Schiffmann, Josef, Zur Histologie der Hühnerpest, p. 393.

Siegel, J., Experimentelle Studien über Syphilis. II. (Schluß), p. 404.

Yakimoff, W. L., Zur Behandlung der Dourine, p. 437.

Nachdruck verboten.

Bacterium mariense (nov. spec.), ein neuer Alkalibildner.

[Aus der Abteilung für allgemeine Pathologie des kaiserlichen Instituts für experimentelle Medizin.]

Von Dr. W. N. Klimentko, St. Petersburg.

In meiner Arbeit (1), die der Gruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* gewidmet war, habe ich gezeigt, daß dieser Gruppe die Gruppe des *Bac. fluorescens non liquefaciens* wahrscheinlich sehr nahe steht, jetzt jedoch hat mir der Zufall ein Bakterium unter die Hände gespielt, das der Gruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* noch näher steht als die Gruppe des *Bac. fluorescens non liquefaciens*.

Der Gruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* kann diese Bakterie einiger Eigentümlichkeiten wegen nicht einverleibt werden. Der praktische Wert ihrer Untersuchung besteht darin, daß sie dem Typhusbacillus näher steht als dem *Bac. faecalis alkaligenes* und außerdem für Tiere pathogen ist.

Den beschriebenen Bacillus isolierte ich aus der Milz und dem Blute eines scheinbar gesunden Meerschweinchens.

Der untersuchte Bacillus ist ein Stäbchen mit abgerundeten Enden. Bei einer Färbung mit Fuchsin schwankt seine Länge zwischen 0,72 bis 1,72 μ , und die Breite zwischen 0,22—0,44 μ , mit Methylenblau gefärbt, beträgt die Länge 0,57—1,85 μ und die Breite 0,22—0,44 μ . Der untersuchte Bacillus liegt gewöhnlich einzeln, zuweilen zu zweien und bildet nur selten Fäden. Er ist sehr beweglich, ein Peritrich (hat 8—12 Geißeln). Sporen bildet er nicht. Er läßt sich mit allen Anilinfarben gut färben; nach Gram färbt er sich nicht. Er ist nicht säurefest. Bei einer Färbung mit Löfflerschem Blau, mit einer gewöhnlichen Methylenblaulösung, mit Giemsa'scher Lösung und nach Neissers Verfahren findet man nur selten metachromatische, himbeerrot gefärbte Körner (Babes-Ernstsche Körper) im Bacillenkörper. Es findet sich nur je ein Korn in jedem Bacillus. Einige von den beschriebenen Körnern stehen aus dem Bacillenkörper hervor. Zuweilen gelingt es, bei dem Bacillus eine Polfärbung hervorzurufen. Der beschriebene Bacillus kann auch ohne das Hinzutreten von Sauerstoff wachsen; am besten entwickelt er sich unter normalen Bedingungen bei + 37° C, er wächst aber auch bei + 15° C.

Pigment bildet er nicht.

Auf Gelatine werden die Kolonien des untersuchten Bacillus (bei + 18° C) am zweiten Tage dem unbewaffneten Auge sichtbar. Die Tiefenkolonien gleichen denen des *Bac. typhi abdominalis*, die oberflächlichen sind in den allermeisten Fällen denen des *Bac. coli communis* ähnlich, nur bei weitem zarter und zwei- bis dreimal kleiner. In seltenen Fällen jedoch sind die Oberflächenkolonien den typischen Kolonien des *Bac. typhi abdominalis* vollkommen gleich, sogar noch zarter und graziöser als die letzteren. Alles bisher Gesagte bezieht sich auf 2- und 3-tägige Kolonien.

Auf Agar-Agar sind die Kolonien (bei + 36—37° C) schon nach 14—18 Stunden deutlich erkennbar. Die tiefen und die oberflächlichen

Kolonieen sind denen des *Bac. typhi abdominalis* ähnlich, nur etwas kleiner als diese. Die letzten Bemerkungen beziehen sich auf 18—36-stündige Kolonien.

Auf dem Conradi-Drigalskischen Nährboden und Endos Agar entwickelt sich der untersuchte *Bacillus* wie der *Bac. typhi abdominalis*.

Auf leicht alkalischem 4-proz. Agar mit 1 Proz. Mannit und Lakmuskintur wächst die beschriebene Bakterie in Gestalt von blauen Kolonien von geringem Umfang. Auf den letzten drei Nährböden war das Wachsen der Kolonien nicht länger als 48 Stunden beobachtet worden.

Auf gewöhnlichem geraden und schrägen Agar und auf gewöhnlicher gerader und schräger Gelatine wächst das untersuchte Stäbchen etwas schwächer, aber sonst ganz ebenso wie der *Bac. typhi abdominalis*. Die Gelatine wird von dem beschriebenen Mikroorganismus nicht verflüssigt. Der Versuch dauerte 60 Tage. Auf gewöhnlichem Bouillonpepton entwickelt sich der beschriebene *Bacillus* gut, indem er erst eine allgemeine Trübung und nach 3—6 Tagen einen unbedeutenden schleimigen Satz auf dem Boden des Reagenzglases hervorruft, und schließlich nach 7—10 Tagen ein feines Häutchen auf der Oberfläche der Bouillon bildet. Auf 1—2-proz. Peptonwasser wächst er ebenso wie auf Bouillonpepton, nur ohne Bildung eines Häutchens.

Das Verhältnis des beschriebenen *Bacillus* zur Milch ist demjenigen des *Bacillus paratyphosus* B sehr ähnlich; in den ersten 3—6 Tagen scheint die Milch sich gar nicht zu verändern, aber vom 7. bis 8. Tage an wird sie allmählich immer durchsichtiger und zugleich gelbbraun, und auf dem Boden des Reagenzglases bildet sich ein leichter Satz, wobei die Reaktion der Milch immer alkalischer wird. Immerhin wurde sie sogar nach einem 2 Monate langen Verbleiben in einem warmen Thermostaten nicht so durchsichtig wie die Milch, die zur Kontrolle mit dem *Bac. paratyphosus* B infiziert worden war und ebenso lange in dem Thermostaten verblieb.

Auf Kartoffeln wächst der untersuchte *Bacillus* ebenso, nur nicht so üppig wie der *Bac. coli communis*.

Auf Petruschkys Neutralmilchserum wächst er, indem er am ersten Tage eine leichte Trübung hervorruft und am zweiten ein Häutchen auf der Oberfläche der Flüssigkeit bildet. Schon nach 10—12 Stunden reagiert der Nährboden alkalisch. Diese Alkaleszenz steigerte sich fortwährend während der ganzen Zeit der Beobachtung (10 Tage).

Ameisensaures Natron [Omelianskis (2) Nährboden] spaltet das untersuchte Stäbchen nicht. Ueber die Zersetzung des ameisen-sauren Natrons urteilte ich ausschließlich nach der Bildung von Gas im Nährboden, nicht nach der alkalischen Reaktion desselben (Indikator Phenolphthalein).

Auf dem eiweißfreien Nährboden von Arthur Meyer (3) und auf demselben Nährboden mit 1 Proz. Asparagin wächst der beschriebene *Bacillus* spärlich, indem er eine leichte Trübung hervorruft.

In Bouillonpepton mit 1 Proz. salpetersaurem Natron wächst der untersuchte Mikroorganismus genau ebenso wie auf gewöhnlichem Bouillonpepton; denitrifizierende Eigenschaften besitzt er nicht. Zur Feststellung salpetrigsaurer Salze verwendete man die veränderte Jodstärkereaktion von Gries (eine Lösung von Sulfanilsäure mit α -Naphthylamin) [Schöne (4)]. Die Reaktion auf salpetrigsaure Salze wurde im Laufe von 10 Tagen täglich ausgeführt. Das Wachstum des beschriebenen

Stäbchens auf den letzten drei Nährböden wurde 10 Tage lang beobachtet.

Bouillonpepton mit Methylenblau wurde von dem untersuchten *Bacillus* in 16–20 Stunden entfärbt.

Den roten, nach Oldekops (5) Verfahren bereiteten Neutralagar Rothbergers verändert der genannte Mikroorganismus während der ersten 8–10 Tage seines Wachstums auf demselben überhaupt nicht, aber bei seiner weiteren Entwicklung auf diesem Nährboden wird dessen dunkelkirschrote Farbe allmählich hellkirschrot-gelblich. Die Kontrollreagenzgläser mit diesem Nährboden veränderten ihre Farbe sogar nach einem 2–4 Monate langen Verbleiben in einem warmen Thermostaten nicht.

Das beschriebene Stäbchen bildet kein Indol. Die Reaktion auf Indol wurde nach dem gewöhnlichen, von Maassen (6) veränderten Verfahren (Amylspiritus) mit 18- und 24-stündigen, 2-, 4-, 6-, 8-, 10-, 14-, 18-, 24- und 28-tägigen Bouillonpepton- und Peptonwasserkulturen der genannten Bakterie angestellt.

SH₂ wird von dem Stäbchen gebildet.

Das beschriebene Stäbchen spaltet keine von den nach dieser Richtung hin erprobten Verbindungen mit Kohlehydraten. Ueber ihre Zersetzung urteilte ich ausschließlich nach der Veränderung der Reaktion des Nährbodens aus einer neutralen oder schwach alkalischen in eine saure. Die Nährböden mit Kohlehydraten wurden nach Grimbert (7) bereitet, d. h. 0,5 Proz. Peptonwasser (Pepton Witte) ohne Chlornatron mit 2 Proz. Kohlehydrat wurden 10 Minuten lang in einem Autoklaven bei 110° C sterilisiert. Zu dem bereiteten Nährboden wurde sterilisierte Lackmustinktur hinzugefügt. Grimberts Verfahren gab mir gute Resultate. Außerdem wurde Barsiekows (8) Verfahren zur Bereitung einiger Nährböden mit Kohlehydraten angewandt.

Es wurden folgende Verbindungen mit Kohlehydraten erprobt: aus der Gruppe des Weintraubenzuckers: Glykose, Galaktose (nach Soxhlet), Lävulose; von Pentosen: Arabinose; aus der Gruppe des Rohrzuckers: Rohrzucker, Milchsucker, Maltose, Raffinose; aus der Gruppe der Cellulose: Dextrin, Arabin; von dreiatomigen Alkoholen: Glycerin; von sechsatomigen: Mannit und Dulcit. Der Glycerin war aus der Fabrik von Sarg (Wien), die übrigen Kohlehydrate aus der chemischen Fabrik von König (Leipzig).

Auf allen mit den genannten Kohlehydraten bereiteten Nährböden bildete die beschriebene Bakterie Alkali. Der Umschlag der Reaktion des Nährbodens wurde gewöhnlich nach 18 Stunden, selten nach 24 Stunden bemerkbar. Im Laufe der Zeit verstärkte sich die Alkaleszenz aller Nährböden. Die Dauer der Beobachtung des Wachstums des untersuchten Mikroorganismus auf den genannten Nährböden kam in allen Fällen 12 Tagen gleich.

Das beschriebene Stäbchen blieb 1 Jahr lang in sterilisierter Milch, die durch eine Gummikappe vor dem Austrocknen bewahrt wurde, und auf Agar unter denselben Bedingungen 1 Jahr und 8 Monate lebensfähig.

Der untersuchte *Bacillus* ist zweifellos vielen Versuchstieren gefahrbringend, aber nicht in sehr hohem Grade. Die Versuche waren an weißen Ratten und Mäusen, Kaninchen, Meerschweinchen und Tauben angestellt worden. Zur Infektion verwendete man in allen Fällen 2-tägige Bouillonpeptonkulturen des beschriebenen Mikroorganismus.

1) Weiße Ratten: 2 Stück. 0,5 ccm Kultur wurden den Tieren subkutan injiziert. In den ersten 3 Tagen nach der Infektion eine unbedeutende Durchtränkung an der Stelle, wo die Injektion ausgeführt worden war. Sie starben nach 27 Tagen unter Erschöpfungssymptomen. Die Sektion ergab nichts Bemerkenswerthes. Es gelang nicht, aus dem Blute und den inneren Organen den injizierten Bacillus zu isolieren.

2) Weiße Mäuse: 4 Stück. Subkutane Injektion von 0,5 ccm der Kultur. Auf die Injektion erfolgte eine eiterige Durchtränkung. Starben nach 24 Tagen. Bei der Sektion: Hyperämie des Bauchfells, eine riesige Milz; im übrigen nichts Bemerkenswerthes. Aus dem Herzblute wurden in allen Fällen die injizierten Bacillen isoliert.

3) Kaninchen: 6 Stück. Ihr Körpergewicht schwankte zwischen 1200—1300 g. Bei subkutaner Injektion oder bei Einführung von 2 ccm der Kultur in die Bauchhöhle wurden alle (5) gesund, fieberten aber im Laufe von 5—6 Tagen. Am Orte der Injektion bildeten sich Durchtränkungen, die sich nach 10—14 Tagen resorbierten. Bei einer Injektion von 1,2 ccm der Kultur unmittelbar in das Blut starb ein Kaninchen am dritten Tage. Die Sektion ergab eine seröse rechtsseitige Pleuritis, eine seröse Entzündung des Herzbeutels, eine unbedeutende Vergrößerung der Milz und parenchymatöse Veränderungen in der Leber und den Nieren. Aus dem Blute, aber nicht aus den serösen Exsudaten, ist der eingeführte Bacillus isoliert worden.

4) Meerschweinchen: 14 Stück. Ihr Gewicht schwankte zwischen 300—380 g. Bei 2 Meerschweinchen, die subkutan infiziert worden waren (2 ccm der Kultur), wurden dieselben Erscheinungen konstatiert wie bei den Kaninchen bei subkutaner Infektion. Den übrigen 12 Meerschweinchen wurde die Kultur in einem Quantum von 2—5 ccm in das Bauchfell injiziert. Von ihnen wurden 6 gesund und 6 gingen ein. Das Gesundwerden und Sterben der Tiere stand durchaus in keiner Beziehung zu dem Quantum der eingeführten Kultur. Alle gesund gewordenen Meerschweinchen fieberten ohne Ausnahme im Laufe von 3—5 Tagen. Der Tod der anderen Tiere erfolgte 1 oder 2 Tage nach der Infektion. Die Sektion der gefallen Tiere ergab folgendes Bild: exsudative Entzündung des Bauchfells, fibrinöse Perihepatitis und Perisplenitis; Vergrößerung der Milz. Parenchymatöse Veränderungen der Leber und der Nieren. Zuweilen Bluterguß in die Dicke der Wände des Dünndarms. In zwei Fällen außerdem eine einseitige seröse Pleuritis und in einem Falle noch eine Entzündung des Herzbeutels. Aus dem Blute gelang es keimmal, den injizierten Bacillus zu isolieren, aus den Exsudaten dagegen jedesmal.

5) Tauben: 21 Stück. Vier Tauben wurde die Kultur gleichzeitig in die Bauchhöhle und in den Brustmuskel eingeführt, 16 Tauben nur in den letzteren, einer Taube verfütterte man eine ganze 2-tägige Agarkultur. Das letzte Experiment ergab ein negatives Resultat. Die Kultur wurde in einem Quantum von 1,2—4,8 ccm injiziert. Von 1,2, 2,4 und 3,6 ccm ging keine Taube ein, sogar wenn ein Teil der Kultur in die Bauchhöhle eingeführt wurde. Die mit 4,8 ccm infizierten Tauben starben alle, mit Ausnahme einer einzigen, unter folgenden Symptomen: An der Stelle, wo die Kultur in den Brustmuskel eingeführt worden war, bildete sich jedesmal ein kleinerer oder größerer nekrotischer Herd, 2mal mit eiteriger Durchtränkung und einmal mit einer Usur des Brustknochens. Die Lungen wiesen nichts Besonderes auf. In der Bauchhöhle wurde eine eiterige Entzündung des Bauchfells nur dann konstatiert, wenn die

Kultur direkt in die Bauchhöhle eingeführt wurde, in allen anderen Fällen waren die Leber und Nieren parenchymatös entartet und außerdem fanden sich in der Leber zuweilen kleine nekrotische Herde. Zuweilen beobachtete man eine unbedeutende Hyperämie der Darmwände. Die Gehirnhöhle war unverändert, das Gehirn blutleer. Es gelang immer, den injizierten Bacillus aus dem Saft der nekrotischen Herde zu isolieren, einmal auch aus dem eiterigen Exsudat der Bauchhöhle und 8mal aus dem Blute.

Als die infizierten Tauben noch lebten, beobachtete man häufig tetanische Zuckungen und zuweilen Durchfall.

Mit dem untersuchten Bacillus wurden 4mal Passageversuche durch den Taubenkörper angestellt und dadurch seine Virulenz gesteigert; so starben zuerst die mit diesem Bacillus infizierten Tauben von 4,8 ccm der Kultur nach 7—11 Tagen; nach der zweiten Passage von derselben Dosis nach 60 Stunden; nach der dritten Passage bei demselben Quantum der eingeführten Kultur nach 16—18 Stunden, und nach der vierten Passage unter denselben Bedingungen nach 8—12 Stunden. Trotzdem blieb eine Taube, die mit 4,8 ccm der nach der dritten Passage gewonnenen Kultur infiziert worden war, am Leben. Wenn die Tauben 7 und mehr Tage nach der Infektion lebten, magerten sie sehr ab. Zuckungen und zeitweises Abmagern wurde auch an denjenigen Tauben beobachtet, die nach der Infektion mit dem untersuchten Bacillus wieder gesund wurden.

Augenscheinlich bildet das untersuchte Stäbchen keine löslichen Toxine. Wenigstens wurden bei Einführung von 4 ccm einer durch den Chamberlain-Filter filtrierten 7-tägigen Bouillonkultur in die Bauchhöhle eines 310 g wiegenden Meerschweinchens keine für dasselbe schädlichen Folgen beobachtet; es nahm sogar schnell an Gewicht zu.

Ein Kaninchen, dem man im Laufe von 76 Tagen 6mal Agarkulturen, die bei $+59-60^{\circ}\text{C}$ getötet worden waren, in das Blutssystem injizierte (die erste Dosis 2 Platinösen, die sechste 3 schräge Agarkulturen), gab ein Serum, das die Fähigkeit hatte, bei einer Verdünnung von 1:5000 zu agglutinieren; doch wirkte das Serum weder auf den *Bac. typhi abdominalis*, noch auf den *Bac. paratyphosus B* und *A*, noch auf irgend einen Repräsentanten der Gruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* und der Gruppe des *Bac. fluorescens non liquefaciens*, sogar bei einer Verdünnung von 1:10. Ihrerseits agglutinierten das Serum des *Bac. typhi abdominalis* und 2 Sera des *Bac. paratyphosus B*, die ich von dem Privatdozenten Dr. N. M. Berestnew erhalten hatte, das untersuchte Stäbchen bei keiner Verdünnung. Der Titre des ersten Serums war 1:10000, der Titre der zwei anderen Sera 1:6000 und 1:18000. Zu meiner Verfügung standen noch 8 Sera, die ich mit Hilfe verschiedener Repräsentanten der Gruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* und 5 Sera, die ich mit Hilfe einiger Vertreter der Gruppe des *Bac. fluorescens non liquefaciens* gewonnen hatte. Der Titre der ersten 8 Sera schwankte zwischen 1:5500—1:120000, der weiteren 5 Sera zwischen 1:3000—1:6000. Alle diese letzten 13 Sera agglutinierten den untersuchten Bacillus bei keiner Verdünnung. Die Agglutinationsversuche wurden den Vorschriften des Königlichen Instituts für Infektionskrankheiten in Berlin [Kolle und Hetsch (9)] entsprechend angestellt.

Somit unterscheidet sich der untersuchte Bacillus von der ersten Nebengruppe des *Bac. faecalis alkaligenes* [W. N. Klimenko (10)]

1) dadurch, daß er ein Peritrich ist, und der *Bac. faecalis* alkaligenes ein Amphitrich; 2) besitzt er keine denitrifizierenden Eigenschaften, während der *Bac. faecalis* alkaligenes denitrifiziert; 3) ist der untersuchte Bacillus den Versuchstieren pathogen, der *Bac. faecalis* alkaligenes dagegen ist augenscheinlich ein Nekrophyt [W. W. Podwissotsky (11)]; 4) agglutiniert das mit seiner Hilfe bereitete Serum den *Bac. faecalis* alkaligenes gar nicht, und umgekehrt wirken die mit Hilfe der verschiedenen Repräsentanten der Gruppe des *Bac. faecalis* alkaligenes bereiteten Sera nicht auf ihn. In allen anderen Beziehungen ist er, wie ersichtlich, der ersten Untergruppe des *Bac. faecalis* alkaligenes vollkommen ähnlich.

Die soeben angeführten unterschiedlichen Merkmale genügen vollkommen, um den beschriebenen Bacillus von der Gruppe des *Bac. faecalis* alkaligenes auszuscheiden und ihn als ganz selbständig anzuerkennen. Da nach meinen literarischen Nachforschungen [Matzushita (12), Flügge (13), Migula (14), Centralblatt für Bakteriologie (15), Annales de l'Institut Pasteur (16) u. m. g.] der genannte Bacillus noch von niemandem beschrieben worden ist, so erlaube ich mir, ihm den Namen „*Bacterium mariense*“ zu geben.

Tabelle.

Die wichtigsten Differentialmerkmale *B. mariense*, *B. typhi abdominalis*, *B. paratyphosus* A und B.

Name des Bacteriums	4 Proz. Agar-Agar mit 1 Proz. Mannit und Lackmuskintur	Omelianskis Nährboden; Zersetzung des ameisensauren Natrons	Erzeugung des Gas aus Glukose	Reduktion des Neutralrotagars	Petruschkys Nährboden	$\frac{1}{2}$ Proz. neutrales Peptonwasser mit 2 Proz. Maltose u. Lackmuskintur	Barsiekows Nährboden mit Glukose
<i>Bac. mariense</i>	Blaue Kolonien	Keine Zersetzung des ameisensauren Natrons	Gas wird nicht erzeugt	Verändert nicht	Erzeugt auf ihm Alkali	Erzeugt auf dem Nährboden Alkali	Erzeugt auf ihm Alkali; kein Gerinnen des Nährbodens
<i>Bac. typhi abdominalis</i>	Rote Kolonien	Idem	Idem	Idem	Erzeugt auf ihm Säure	Erzeugt auf ihm Säure	Erzeugt auf ihm Säure; der Nährboden gerinnt
<i>Bac. paratyphosus</i> A	Idem	Zersetzung des ameisensauren Natrons	Gas wird erzeugt	Reduziert der Neutralrotagar aus rot verändert sich in gelb mit einer grünen Fluoreszenz	Idem	Idem	Idem
<i>Bac. paratyphosus</i> B	Idem	Idem	Idem	Idem	Erzeugt auf ihm zuerst Säure und nach einigen Tagen Alkali	Idem	Idem

Der praktische Wert des *Bac. mariense* besteht darin, daß er leicht mit dem *Bac. typhi abdominalis* und den beiden *Bac.*

paratyphosi A und B verwechselt werden kann, weil er gleich jenen ein Peritrich ist und auf vielen Nährböden ihnen ähnlich wächst, z. B. auf dem Nährboden Conradi-Drigalski, auf Endos Agar, auf Milch (in der ersten Woche). Der Unterschied zwischen dem *Bacterium mariense* und den 3 oben angeführten Bacillen ist in vorstehender Tabelle angegeben.

Ueber die gegenseitigen Beziehungen des *Bac. mariense* zu den Sera des *Bac. typhi abdominalis* und des *Bac. paratyphosus B*, und umgekehrt des *Bac. typhi abdominalis* und *Bac. paratyphosus B* zu dem Serum des *Bac. mariense* ist schon früher ausführlich genug gesprochen worden, deshalb wird es nicht mehr wiederholt.

Folglich ist aus der Tabelle und aus dem über die Agglutinationsreaktion Gesagten ersichtlich, daß es nicht schwer ist, den *Bac. mariense* von dem *Bac. typhi abdominalis* und den *Bac. paratyphosi A* und *B* mit Hilfe aller oben angeführten Nährböden und der Agglutinationsreaktion zu unterscheiden, aber doch bei der Differentialdiagnose wird man immer den *Bac. mariense* im Auge behalten müssen.

Literatur.

- 1) Klimenko, W. N., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. p. 755.
- 2) Omelianski, W., Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIV. p. 1; und Abt. II. Bd. XIV. No. 22/23.
- 3) Meyer, Arthur, Praktikum der botanischen Bakterienkunde. 1903. p. 15 und 25.
- 4) Schöne, Zeitschr. f. analyt. Chem. Jahrg. XXXIII. Heft 2.
- 5) Oldekop, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXV. p. 120.
- 6) Maassen, Arbeiten aus dem Kaiserl. Gesundheitsamte. Bd. IX. p. 403.
- 7) Grimbert, Archives de parasitologie. T. VII. p. 237.
- 8) Barsiekow, Wiener klin. Rundschau. 1901. No. 44.
- 9) Kolle und Hetsch, Die experimentelle Bakteriologie. 1906. p. 100—103.
- 10) Klimenko, W. N., Op. cit.
- 11) Podwysotszki, W. W., Grundzüge der allgemeinen Pathologie. 4. Aufl. p. 84. [Russisch.]
- 12) Matzushita, Bakteriologische Diagnostik. Jena 1902.
- 13) Flügge, Die Mikroorganismen. 3. Aufl. 1896.
- 14) Migula, System der Bakterien. Bd. II. 1900.
- 15) Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I und II für alle Jahre.
- 16) Annales de l'Institut Pasteur für alle Jahre.

Nachdruck verboten.

Ueber das spezifische Gewicht einiger Bakterien.

[Aus dem hygienischen Institut der Univ. Helsingfors. Vorstand
Prof. Dr. med. Taav. Laitinen.]

Von R. Stigell.

Ueber das spezifische Gewicht der Kulturmasse einiger Bakterien.

Schon durch Untersuchungen Boltons¹⁾ ist es bekannt geworden, daß unbewegliche Bakterien in ruhendem Wasser sich langsam absetzen. Rubner hat das spezifische Gewicht nach pyknometrischer Methode be-

1) Bolton, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. I. 1886. p. 72.

stimmt. Almqvist¹⁾ versuchte, das spezifische Gewicht durch Zentrifugieren in passenden Emulsionsflüssigkeiten von bekanntem spezifischen Gewicht zu bestimmen. Auf diese Weise wurde auch konstatiert, daß die Sporen von *Bac. subtilis* schwerer als die vegetativen Formen sind. Es gelang Kryzozonowska auch, verschiedene Bakterienarten durch Zentrifugierung voneinander zu trennen. Die Sedimentierung kann durch Zusatz von Infusorienerde, Tierkohle u. a. bedeutend vervollkommnet werden. Strasburger²⁾ bemerkte, daß man auch durch Verringern des spezifischen Gewichts der zu zentrifugierenden Flüssigkeit die Sedimentierung beschleunigen kann.

Um genaue Werte für die verschiedenen Kulturmassen von einigen Bakterien zu gewinnen, führte ich einige Versuche nach folgender Methode aus: Um die Mischung von Agar zu vermeiden, wurde in 1 ccm von 50-proz. Kaliumkarbonatlösung von 1,554 spezifisches Gewicht mittels einer größeren Platinöse (5 mm Durchm.) vorsichtig ein Stückchen der resp. Kulturmasse hinein gemischt. Obgleich — wie schon durch Bolton, Rubner etc. bekannt ist — das spezifische Gewicht aller Bakterienmassen größer als 1 ist, so übertrifft doch keine Kulturmasse den Wert 1,554, welchen die 50-proz. Kaliumkarbonatlösung hat. Darum erheben sich alle Stückchen der resp. Kulturmassen zugleich auf die Oberfläche. Daraus kann man schon schließen, daß das spezifische Gewicht der resp. Massen kleiner als 1,554 sein muß. Wenn man nun in die oben genannte 50-proz. Kaliumkarbonatlösung succesiv Aq. dest. hineingießt und dadurch das spezifische Gewicht der Salzlösung allmählich vermindert, wird das spezifische Gewicht der Flüssigkeit immer kleiner und so kann man in einem gewissen Zeitpunkt merken, daß das spezifische Gewicht der Bakterienkulturmasse und der Flüssigkeit dasselbe ist. Ein Stückchen der Kulturmasse hält sich dann auf jeder beliebigen Stelle der Flüssigkeit. Vor diesem Gleichgewichtszustand steigt es immer auf die Oberfläche, weil das spezifische Gewicht der Flüssigkeit dann noch größer war. Wenn man noch mehr Wasser zusetzt und das spezifische Gewicht der Flüssigkeit auf diese Weise immer kleiner macht, senkt sich das Stückchen der Bakterienmasse hinab. Diese Grenzwerte, wo die Massen entweder auf die Oberfläche steigen oder zum Boden hinabsinken, können mit großer Genauigkeit und Sorgfalt sehr nahe aneinander gebracht werden, und so kann man das spezifische Gewicht der beobachteten Masse bestimmen. Bei diesem Versuche muß man sorgfältig beobachten, damit die in der Flüssigkeit vorkommenden Strömungen, die durch die Verbreitung der Konzentration bedingt werden, nicht zu falschen Beobachtungen leiten. Man muß auch nach jeder Beobachtung die Lösung genügend lange Zeit stehen lassen, denn je näher die spezifischen Gewichte der Bakterienkulturmasse und resp. Lösung bleiben, je langsamer wird die Bakterienmasse sich entweder erhöhen oder senken.

Wenn das spezifische Gewicht der Stückchen unter 1 war, wurde statt der Kaliumkarbonatlösung absoluter Alkohol gebraucht. Da das spezifische Gewicht aller Massenstückchen größer als 0,794 war, senkten sich alle Stückchen gleich herab. Und wenn man nun Aq. dest. succesiv zuführte, konnte man zuerst die Grenzwerte und dann die wirklichen Werte der resp. Stückchen bestimmen.

1) Almqvist, Zeitschr. f. Hyg. u. Infektionskrankh. Bd. XXVIII. 1898. p. 321.

2) Thoman, Centrbl. f. Bakt. etc. I. Abt. Bd. XXVIII. 1900. p. 627.

Auf diese Weise bestimmte ich das spezifische Gewicht der Kulturmassen aus Agar-Agar- und Gelatine-Nährboden, ebenso dasselbe der Häutchen und Bodensatzbildungen von Bouillonkulturen.

Für die Kulturmassen verschiedener Bakterien aus Agar-Agar-Nährboden wurden folgende Werte beobachtet:

	Alter der Kultur	
	80 Tage	40 Tage
<i>Vibrio aquatilis</i>	1,315	1,274
„ <i>proteus</i>	1,130	1,130
<i>Sarcina flava</i>	1,164	1,177
„ <i>ventriculi</i>	1,171	1,192
<i>Staphylococcus aureus</i>	1,321	1,182
„ <i>citreus</i>	1,124	1,118
„ <i>albicans</i>	1,171	1,191
<i>Bac. acidi lactici</i>	1,138	1,141
<i>Oidium albicans</i>	1,210	1,184
<i>Bac. pseudotubercul.</i>	1,177	1,215
<i>Microc. flavus liquefac.</i>	1,259	1,241
Grawford-Bac.	1,221	1,262
<i>Bac. megatherium</i>	1,153	1,159
Butterbac. Strassburg.	1,171	1,150
<i>Bac. prodigiosus</i>	1,245	1,177
<i>Vibrio cholerae</i> [Kaukasien]	1,275	1,326
„ „ [Persien]	1,315	1,319
<i>Proteus vulgaris</i>	1,200	1,221
<i>Bac. paratyphus</i>	1,259	1,227
<i>Bac. butyricus</i> H.	1,135	1,219
<i>Bac. suipestifer</i>	1,192	1,205
<i>Bac. mesentericus fusc.</i>	1,245	1,262
<i>Micrococcus tetragenus rubens</i>	1,165	1,171
<i>Bac. subtilis</i>	1,120	1,134
<i>Bac. enteritidis</i>	1,200	1,177
<i>Bac. dysentericus</i> St. Pb.	1,232	1,232
<i>Bac. anthracis</i>	1,177	—

Bei *Bac. tuberculosis* kamen die größten Schwierigkeiten vor, weil verschiedene Stückchen aus der Glycerin-Agar-Kultur sich untereinander vollkommen unähnlich zeigten. Im Durchschnitt war der Wert derselben 1,118, aber es gab Stückchen von 0,887 bis 1,287.

Kulturmasse aus Gelatine.

Für die auf Gelatine gewachsenen Bakterienmassen erhielt ich mehrere Werte, die zwischen 1,126 und 1,345 variierten. Für *Bac. coli* comm. z. B. war dies 1,315. Für die Bodensatzbildung von Gelatine verflüssigenden Arten erhielt ich Werte, die zwischen 1,017 und 1,315 variierten.

Die spezifischen Gewichte der Häutchen von Bouillon-Oberflächen erhielten folgende Werte:

Die Kulturen waren 5 Tage alt.

<i>Bac. subtilis</i>	0,931
<i>Bac. butyricus</i>	0,924
<i>Bac. megatherium</i>	0,887
<i>Vibrio aquatilis</i>	0,979
„ <i>cholerae</i>	0,937
<i>Tetragenus rubens</i>	0,965

Für die Bodensatzbildungen in Bouillonkulturen konnte ich nur die Grenzwerte bestimmen und werden hier folgende Werte erwähnt:

<i>Bac. pyocyaneus</i>	0,922—1,276
<i>Tetragenus rubens</i>	0,887—1,456
<i>Bac. subtilis</i>	0,993—1,356

Bac. megatherium	0,965—1,339
Bac. humosus α ? ¹⁾	1,171—1,446
" " β ?	1,211—1,278

Mit *Bac. coli communis* und *Bac. typhi* führte ich folgende parallele Versuche aus:

	Bac. typhi	Bac. coli comm.
2 Tage	1,153	1,210
4 "	1,153	1,188
6 "	1,165	1,200
40 "	1,138	1,200
80 "	1,144	1,210

Den oben erwähnten Zahlen gemäß sind die spezifischen Gewichte der Kulturmassen von *Bac. coli communis* regelmäßig etwas größer als dieselben des *Bac. typhi*. Auf diese Weise gelang es mir auch mehrere Male, *Bac. coli communis* und *Bac. typhi* voneinander zu unterscheiden. Wenn einige Stückchen der in Fränkelscher Lösung gewachsenen 5-tägigen Kulturmasse von *Bac. typhi* und *Bac. coli communis* in absoluten Alkohol gebracht wurden, erhoben sich die von *Bac. typhi* gleich auf die Oberfläche, die von *Bac. coli communis* aber senkten sich herab.

Das spezifische Gewicht der vegetativen Zellen von *Bacillus pyocyaneus*.

Weil das spezifische Gewicht der lebenden Bakterienzellen größer als >1 sein dürfte, könnte man voraussetzen, daß die Entwicklung der Bakterien einige Veränderungen im spezifischen Gewicht des Nahrungstoffes und dabei natürlich auch im Volumen desselben verursacht. Um dies zu konstatieren, habe ich auch folgende Versuche ausgeführt. In einen gradierten Cylinder von 500 ccm wurde soviel Bouillon eingefüllt, daß das Volumen, nachdem man ein Areometer eingelegt hatte und der Cylinder mehrere Stunden im Thermostaten gewesen war, einen Inhalt von 499,96 ccm zeigte. Das Areometer zeigte nun, daß das spezifische Gewicht der Bouillon einen Wert von 1,004 hatte. Dann wurde ein Tröpfchen von *Bac. pyocyaneus*-Bouillonkultur hineingetropft und der Cylinder mit Stöpsel und Paraffin verschlossen. Das Volumen und spezifische Gewicht schienen unverändert zu bleiben.

Bac. pyocyaneus entwickelte sich rasch und gleichmäßig in der Bouillon. Nach einigen Stunden untersuchte ich, ob das Wachstum des *Bac. pyocyaneus* einige Veränderungen des Volumens oder des spezifischen Gewichtes der Bouillon verursachen konnte.

Die Veränderungen, die sowohl das Volumen als das spezifische Gewicht angaben, waren jedoch so unbedeutend, daß man dieselben kaum berücksichtigen kann. Nach 24 Stunden zeigte das Areometer zwar, daß das spezifische Gewicht von 1,004 auf 1,055 gestiegen war. Das Volumen hatte sich von 499,96 auf 499,11 gesenkt. Wenn man voraussetzt — weil der Cylinder dicht geschlossen war — daß die Verdunstung keine Veränderung des Volumens verursachen könnte, könnte man auch das spezifische Gewicht mittels der Werte obenerwähnter Volumen bestimmen.

$499,96 \times 1,004 = 499,11 \cdot x$, wovon x den Wert 1,057 erhielt, der beinahe derselbe ist, den das Areometer zeigte. Aus der Volumenverän-

1) Aus Torf reingezüchtet, noch nicht genauer diagnostiziert.

derung erhaltener Werte das spezifische Gewicht zu bestimmen, ist darum sicherer, weil es das ganze Volumen darstellt, als wenn das Areometer nur das spezifische Gewicht der Oberfläche zeigt. Später kamen jedoch größere Differenzen vor, aber da wurde schon Bodensatz gebildet, weshalb die Veränderungen durch die lebenden Zellen nicht mehr verursacht waren, und konnte man darum dieselben nicht mehr in Betracht ziehen.

Nachdruck verboten.

Neue Tatsachen zur Biologie der Typhusbakterie.

Von Prof. Dr. E. Almquist.

Die Typhusbakterie vermehrt sich reichlich in sterilisierten, wässrigen Extrakten von verschiedenen Düngerstoffen, ebenso wie von verwesstem Laub oder Seegras. Nach genügendem Wasserzusatz vermehrt sie sich auch reichlich in gewissen Arten von verunreinigter Erde, im Schlamm von abgestorbenen Algenzellen von Sandfiltern und in Sinkstoffen vom Boden verunreinigter Wasserläufe. Wir finden somit, daß die Bakterie nicht sehr wählerisch ist, wo man ihr sterilisierte Nahrung bietet; sie fordert nicht große Konzentration ihrer Nahrung.

Troili-Petersson fand, daß die Typhusbakterie im Filterschlamm, der hauptsächlich aus abgestorbenen Algen besteht, sich stark vermehren konnte, auch wenn zahlreiche Wasserbakterien gleichzeitig im Wasser wucherten. Dieses war in etwa der Hälfte von 40 Versuchen der Fall; in den übrigen Versuchen verschwanden die eingepfropften Typhusbacillen in kurzer Zeit.

Koraen hat die beachtungswürdige Tatsache festgestellt, daß Typhusrassen, die vom menschlichen Körper oder von gewöhnlicher, peptonreicher Nahrung in Düngerextrakt überimpft werden, sich darin wohl reichlich vermehren, aber spät den Höhepunkt der Entwicklungskurve erreichen. Nach wiederholtem Ueberimpfen in Düngerextrakt gewinnt jedoch die Typhusbakterie allmählich die Fähigkeit, reichlich und schnell darin zu wachsen. In dieser Hinsicht verhalten sich alle typhusähnlichen Bakterien anders. *B. paratyphi*, *B. dysenteriae*, *B. coli* wachsen nämlich von Anfang an sehr schnell und reichlich in denselben Düngerextrakten. Da die Untersuchung viele Rassen, darunter 60 Typhusrassen, umfaßt, so haben wir in dem Befund von Koraen einen neuen gemeingültigen Unterschied zwischen Typhusbacillen und typhusähnlichen Bakterien erhalten.

In kompostiertem, verrottetem Dünger von Pferden, mit Wasser oder Bouillon versetzt, fand ich im vorigen Herbst, daß die Agglutinabilität einer Typhusrasse völlig verschwinden konnte. Koraen untersuchte nachher die näheren Umstände, unter denen die auffallende Erscheinung zu stande kommt. Es stellte sich dann heraus, daß die Inagglutinabilität bei 14° C am meisten ausgesprochen ist. Sie zeigt sich nicht in Kulturen von gewöhnlicher Bouillon, Gelatine oder Agar, und auch nicht in einem klaren Extrakt vom Dünger. Die Erscheinung geht nach einigen Wochen wieder verloren. Wenn der inagglutinable Stamm wiederholt auf Glycerinagar überimpft wird, so wird er bald agglutinabel. Beim Gießen von Agarplatten kann man sich überzeugen,

daß die Kolonien aus den betreffenden Erdekulturen wahrscheinlich alle inagglutinabel sind.

Koraen fand weiter, daß der inagglutinable Stamm im frischen Meerschweinchenserum sich so resistent zeigen konnte, daß er sich darin gleich schnell und reichlich vermehrte. Der gewöhnliche Typhusstamm stirbt in demselben Serum — wie bekannt — schnell ab.

Es scheint mir möglich, daß wir auf dem betretenen Wege eine neue Art feststellen könnten, wie Bakterien erhöhte Virulenz erwerben.

Inagglutinabilität und Resistenz in Bezug auf Serum haben wir nur bei gewissen Typhusrassen, sowohl aus Schweden wie aus Deutschland, beibringen können. Andere Typhusrassen blieben bei derselben Behandlung stets in besagter Hinsicht unverändert, also fortwährend stark agglutinabel.

Ich habe schon längst Beobachtungen veröffentlicht, in denen eine neue Fruktifikationsform der Typhusbakterie beschrieben wurde. Ich hatte nämlich bei dieser ebenso wie bei Choleraspirillen keimende Kugeln getroffen, die ich als eine Art von Konidien auffaßte. Ich habe mehrere Methoden gefunden, die dieselbe Bildung hervorbrachten. Hier will ich nur an eine Methode erinnern, nach der leicht und sicher die Typhuskugeln zu studieren sind.

Kompostierter, verrotteter Dünger oder verunreinigte Erde, mit Wasser versetzt, wird nach Sterilisieren mit Typhusbakterien geimpft und darauf einige Wochen bei Zimmertemperatur gelassen. Die Kulturen, die inagglutinable Bakterien ausgebildet haben, eignen sich sehr gut zu diesen Versuchen. Von den Kulturen breitet man nun reichlich über die ganze Oberfläche eines recht trockenen Schrägagars aus. Nach einigen Tagen, etwa nach 1 Woche, ist der Schrägagar bei Zimmertemperatur mit Stäbchen überwuchert. Diese Stäbchen bilden im hängenden Tropfen in gewöhnlicher Bouillon Kugeln. Die Bildung vollzieht sich bei Zimmertemperatur innerhalb einiger Stunden. Bis zum nächsten Tage, bei 12° C aufbewahrt, ist der Tropfen öfters ganz voll von Stäbchen mit ansitzenden Kugeln von 1 μ im Diameter. Bei höherer Temperatur ist die Erscheinung schnell vorübergehend, und den nächsten Tag sieht man nur seltene Reste der eigentümlichen Erscheinung.

Die genannten Kugeln keimen in kurzer Zeit. Im hängenden Tropfen bei 30° C findet man, oft nach 2 Stunden, manchmal am schönsten nach 6 Stunden, daß die Kugel, die von Anfang an mittels eines kurzen Halses mit dem Stäbchen verbunden war, sich löst. Die runde Kugel ist nun frei und schwimmt oft schnell herum. Gleichzeitig fängt sie zu keimen an; aus ihr sproßt ein kleines Stäbchen hervor. Das Stäbchen wächst weiter und teilt sich nach kurzer Zeit in 2 Stäbchen. Die leere Kugelschale kann man nachher manchmal wahrnehmen. Die Bildung von Stäbchen zu Stäbchen vollzieht sich also auf diesem Wege innerhalb weniger Stunden. Der Hals scheint ganz einfach durch die dicke, unsichtbare Schleimbülle der Stäbchen hervorgerufen zu sein.

Ich empfehle die beschriebene Methode mit Erde-Schrägagarkultur, weil dann die häufigen Stäbchen ein besonders gutes Material abgeben. Man kann aber die Kugelbildung und die Keimung auch direkt aus der Erdekultur im hängenden Bouillontropfen beobachten.

Da die Typhusbakterie von der Erde in Peptonnahrung übergeführt wird, bringt sie gleich die Kugelbildung mit erneuter Stäbchenbildung hervor. Wahrscheinlich geschieht dasselbe, wenn die kugelbildende Bakterie, von der Außenwelt kommend, in den menschlichen Darm gerät.

In gewissen Fällen ist auch anzunehmen, daß das gebildete Stäbchen dann auch inagglutinabel und gegenüber dem Blute resistent ist.

Die Typhusbakterie hat außer den allbekannten groben Stäbchen recht verschiedene Formen. In älteren Kulturen von Düngstoffen sind die groben Stäbchen durch eine unendliche Menge von sehr kleinen nadelförmigen Stäbchen ersetzt, und dieselben trifft man auch in älteren Peptonkulturen. — In Bouillon kann die in Erde gewachsene Typhusbakterie bei 10° C dicht verschlungene, lange Fäden bilden, die sich nicht emulgieren lassen und makroskopisch wie Schimmelmycel aussehen.

Auch die Choleraspirillen bilden zahlreiche keimende Kugeln, aber unter anderen Bedingungen als bei dem Typhus. Ich habe bei mehreren Bakterienarten einzelne Kugeln von anscheinend gleicher Beschaffenheit getroffen. Es ist offenbar, daß die Erscheinung bei vielen Arten vorkommt, wahrscheinlich muß man für jede Art separat studieren, unter welchen Bedingungen sie ihre Kugeln bilden.

Die jetzt behandelte Kugel- und Konidienbildung ist in der Literatur, soviel ich weiß, für die eigentlichen Bakterien unbekannt. Die einzige Beobachtung, die möglicherweise zum Teil hierher gehören kann, wird von den Verfassern als Degenerationsform oder als Plasmoptyse geschildert; einige beobachtete Kugeln sind den meinigen ähnlich, sie keimten jedoch nie. Nicht keimende, anscheinend degenerative Kugeln trifft man bei Choleraspirillen sehr oft und dazwischen auch bei anderen Bakterien. Zum Teil können diese möglicherweise als dieselbe morphologische Bildung aufgefaßt werden wie die keimenden. Dergleichen Formen sind in der Bakteriologie als Involutionsformen bezeichnet worden. Die Vorstellung, daß eine Degeneration vorläge, scheint manchmal so stark imponiert zu haben, daß die Möglichkeit des Keimens nicht einmal zur Frage gebracht wurde.

In der älteren botanischen Literatur habe ich nur bei den ektosporen Myxomyceten morphologische Bildungen angetroffen, die einigermaßen eine Aehnlichkeit mit meinen keimenden Bakterienkugeln aufweisen. Da ich diese Literatur nicht beherrsche, konsultierte ich Prof. E. Chr. Hansen, der die Freundlichkeit hatte, einige meiner Konidienpräparate zu besehen und diese Forschung mit Interesse zu verfolgen. Vor kurzem machte mich Prof. Hansen mit den neuen Arbeiten von Ellis bekannt.

Dr. David Ellis hat 1907 bei Trichobakterien Konidien beschrieben, die tatsächlich mit den meinigen große Aehnlichkeit haben. Die Beobachtung betrifft Eisenbakterien, *Leptothrix ochracea*, *Gallionella ferruginea* und die neue Art *Spirophyllum ferrugineum*. Aeltere Fäden sind an der Oberfläche mit Konidien bedeckt, die nach der Trennung 1—2 μ messen und bei der Keimung bewegliche Stäbchen hervorbringen, die schließlich zu Fäden auswachsen.

Die Uebereinstimmung zwischen den Eisenbakterien und dem Typhusstäbchen liegt nicht nur in dem Hervorbringen ähnlicher Konidien, sondern auch Stäbchen und Fäden bieten Analogieen. Ein Unterschied findet sich darin, daß bei den Eisenbakterien viele Konidien gleichzeitig von einem Individuum aussprossen, während das Typhusstäbchen gewöhnlich nur eine und der Typhusfaden wenige hervorbringt. Die Konidien der Eisenbakterien vermehrt die Pflanze reichlich, was bei der Typhusbakterie nicht in demselben Maße der Fall ist.

Was ich eben vom Typhusstäbchen sagte, trifft ebenso bei den Choleraspirillen zu. Dieselben bringen in Erdekulturen keimende Koni-

dien, lange Fäden und kurze Stäbchen hervor. Es scheint mir unzweifelhaft zu sein, daß die gemeinsame Konidienbildung die nähere Verwandtschaft beweist.

Die betreffende Art von Konidien mit ihren Eigentümlichkeiten will ich Bakterienkonidien nennen. Es wird jetzt von größtem Interesse sein, zu erforschen, wie groß der Teil der Bakterien ist, der ähnliche Konidien bildet. Es ist natürlich, daß wir hier gute Hilfe bei der Systematisierung der Bakterien und der Trichobakterien finden werden. Bei *B. coli* habe ich bis jetzt vergebens Konidien gesucht. Diese Art scheint nur Oidien hervorzubringen und ist vielleicht mit dem Erreger der sauren Milch, *B. lactis* Lister, näher verwandt.

Es erübrigt noch, von den ungleichen Typhusrassen zu sprechen. Eine Rasse habe ich hier besprochen, die in Erdekulturen ihre Agglutinabilität verlieren kann. Dieselbe Rasse bildet unter den beschriebenen Verhältnissen auch sehr reichliche Mengen von keimenden Kugeln. Ob sie diese Eigenschaft auch als alte Laboratorienkultur behält, scheint unsicher zu sein. Ich habe mehrere andere Typhusrassen von verschiedenen Ortschaften untersucht, die wohl Andeutung von Konidienbildung, aber nicht die besagten Charaktere zeigten. Ich trenne deshalb die erstgenannte Rasse von den anderen und benenne sie als Elementarart *Bacterium typhi ditrophicum*. Ich will mit diesem Namen bezeichnen, daß das Stäbchen zwei verschiedene Zustände hat. In dem einen, und zwar in Erdekulturen, neigt es zu Inagglutinabilität und zu Bildung von Konidien; in dem anderen Zustande, bei gewöhnlicher Kultur, gehen demselben die genannten Fähigkeiten ab. *B. typhi ditrophicum* ist neben anderen Typhusrassen sowohl in Schweden wie in Deutschland als die Ursache von Darmtyphus angetroffen worden.

Es ist den Bakteriologen nicht entgangen, daß der Typhuserreger, in Uebereinstimmung mit den meisten Bakterienarten, mehrere Rassen umfaßt. Soviel ich weiß, hat man jedoch nicht die konstanten Charaktere einiger Rassen aufzufinden versucht, obgleich dieses ein gewisses Interesse beansprucht. Es ist möglich, daß sogar die Ansteckungsfähigkeit bei verschiedenen Rassen ungleich ist. Wenn eine Rasse in der Erdekultur unverändert bleibt, während eine andere sich in wichtigen Punkten darin ändert, so hat das gewiß für ihre Verbreitung Bedeutung.

§ Durch Erdekulturen habe ich also eine häufig vorkommende Typhusrasse charakterisieren und als Elementarart beschreiben können; ich habe keimende Kugeln hervorgebracht, die ich Bakterienkonidien nenne, wodurch die Verwandtschaft einerseits mit den Choleraspirillen, andererseits mit gewissen Trichobakterien erwiesen wurde; in Erdekulturen können Inagglutinabilität und Resistenz gegenüber Blutserum gewonnen werden; durch Erdekulturen kann man sicher Typhusbakterien und typhusähnliche trennen; zusammen mit abgestorbenen Algen wächst die Typhusbakterie im Trinkwasser sehr gut, auch in unsterilem Wasser; die Typhusbakterie vermehrt sich reichlich in sterilen wässerigen Extrakten von allerlei Düngern, auch rein vegetabilischen; nach Wasserzusatz und Sterilisieren wächst sie auch in gewissen Arten von verunreinigter Erde und Sinkstoffen der Wasserläufe.

Literatur.

- Almquist, Neue Entwicklungsformen des Choleraspirills und der Typhusbakterie. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXVII. 1904. p. 18.)
 — —, Kultur von pathogenen Bakterien in Düngern. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. 1905. p. 179.)
 Ellis, On the discovery of a new genus of thread-bacteria. (Proceed. Royal Soc. of Edinburgh. Vol. XXVII. Part I. 1907. p. 21.)
 Koraen, Zur Biologie des Erregers des Darmtyphus. (Nord. med. Arkiv. Abt. II. H. 2. Stockholm 1907.)
 Troili-Petersson, Studien über das Wachstum des *B. typhosum* und des *Vibrio cholerae* in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. p. 5.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Latenz der Tetanussporen im tierischen Organismus.

[Chirurgisch-pathologisches Institut der kgl. Universität zu Rom
 (Direktor: Prof. R. Alessandri).]

Von Dr. **Michele Canfora.**

Uebersetzt von Dr. Kurt Tautz, Friedenau-Berlin.

Die Latenz der pathogenen Keime im Blute hat man an Tieren studieren können, welche gegen die verschiedenen Infektionen geimpft waren. Der Choleravibrio verschwindet aus dem Blute des vaccinierten Tieres 20—40 Minuten nach der Inokulation, der Typhusbacillus unter denselben Bedingungen nach 24 Stunden und der *Pyocyaneus* nach 6 Stunden. Das Verschwinden der pathogenen Keime aus dem Blute geschieht noch rascher bei denjenigen Tieren, die von Natur aus einer bestimmten Infektion gegenüber refraktär sind. Der Fraenkelsche *Pneumococcus* verhält sich in ganz verschiedener Weise. Derselbe findet sich (Tizzoni und Panichi)¹⁾ bei Individuen, die an einer krupösen Pneumonie gelitten haben, noch bis zu 15 Monaten nach ihrer Heilung im Blute. Bei Tieren, welche mit antipneumonischem Serum geimpft sind, kann der *Pneumococcus* noch lange im Blute leben; seine Zerstörung vollzieht sich sehr langsam (man wies sein Vorkommen noch 130 Tage nach der Inokulation nach), und es ist nicht leicht, den Zeitpunkt seines Verschwindens genau festzustellen; derselbe steht in direkter Beziehung zu der Menge des verimpften Materiales. Tizzoni zieht hieraus Schlußfolgerungen allgemeiner Natur, daß nämlich ein pathogener Keim im Blute lange ein latentes Leben führen kann, ohne überhaupt Zeichen seiner Anwesenheit zu geben. Die Tatsache, die man für den *Pneumococcus* nachgewiesen hat, entspricht demjenigen, was Behring als einfache Hypothese für die Tuberkulose angenommen hat²⁾.

1) Tizzoni e Panichi, Sulla permanenza dello pneumococco di Fraenkel nel sangue di individui guariti di polmonite fibrinosa. Bologna 1905.

2) Tizzoni e Panichi, Ueber die Zerstörung des Fraenkelschen *Pneumococcus* im Blute immunisierter und hypervaccinierter Tiere. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. 1905.)

Wie verhalten sich nun die Tetanussporen? Verimpft man dieselben unter die Haut in reinem Zustande, d. h. frei von Toxin und jeder möglichen Verunreinigung mit anderen Keimen, so verursachen sie nicht die Krankheit. Vaillard glaubte und wies es auch durch einige Versuche nach, daß die in dieser Weise verimpften Tetanussporen nicht schädlich werden könnten, da sie von den Leukocyten aufgenommen und zerstört werden würden. Manchmal jedoch kann eine Spore infolge ihrer Widerstandsfähigkeit oder der verminderten verdauenden Fähigkeit der Phagocyten lange im Innern des Zellprotoplasmas am Leben und virulent bleiben (80—94 Tage). Das ist auch der Grund, weshalb atoxische Sporen so lange im Organismus der Tiere verbleiben können¹⁾.

Sanchez-Toledo und Velion dagegen glaubten, daß der Tetanuskeim nicht imstande wäre, in das Blut einzudringen, solange das Tier noch am Leben wäre; dies sollte nur in den letzten Lebensstunden des Tieres möglich sein. Der Tetanusbacillus ist ein Anaërobe, und daher lebt er schlecht in einem Blute, in dem der Sauerstoff nur schwach an das Hämoglobin gebunden ist. Nach dem Tode werden die Bedingungen verändert, da der Sauerstoff des Blutes nicht erneuert wird. Auf diese Weise wird das Blut ein günstiger Nährboden für die anaërobe Entwicklung des Tetanusbacillus. Das, was für den Tetanusbacillus gilt, gilt auch für den Bacillus des malignen Oedems. Auch dieser Anaërobe findet sich nur an der Inokulationsstelle und nur ausnahmsweise im Blute; es gelingt indessen leichter, ihn kurz vor dem Tode nachzuweisen²⁾. Heute indessen stellt man sich die Anaërobiose nicht mehr in der Weise vor, daß der Sauerstoff durch seine Gegenwart das Leben und die Entwicklung der Anaëroben verhindert. Nach den Untersuchungen von Tarozzi, Harrass, Adam Wrzosek und einigen persönlichen Beobachtungen, die ich an anaërobischen Kulturen des Tetanusbacillus zu machen Gelegenheit hatte, hat es den Anschein, als ob die Anaërobiose nur durch eine besondere Beschaffenheit des Nährbodens gegenüber diesen Keimen bedingt ist.

Beim Studium der Latenz der Tetanussporen im Organismus suchte Tarozzi³⁾ experimentell nachzuweisen, daß die Tetanussporen die Fähigkeit besitzen, sich in den tiefegelegenen Organen aufzuhalten, wo sie dann eine mehr oder weniger lange Zeit hindurch ein latentes Leben führen können, und daß Gelegenheitsursachen, vor allem eine Nekrose der Gewebe, die Entwicklung der Sporen und also auch eines Tetanusherdes begünstigen können. Er impfte Meerschweinchen und Kaninchen mit atoxischen, an Sporen sehr reichen Kulturen und suchte dann in der Lunge, Leber, Milz, Niere und in den Lymphdrüsen die Tetanussporen mittels Kultur nachzuweisen. Die Resultate waren positiv; die längste von ihm gefundene Periode betrug $3\frac{1}{2}$ Monate beim Kaninchen. Er suchte dann mittels schwerer Traumen an den Organen ausgedehnte Nekrosen hervorzurufen. In der Hälfte seiner Fälle gelang es ihm, nach einer Latenzperiode der Sporen von 7—51 Tagen einen akuten oder chronischen Tetanus hervorzurufen.

Eine gewisse Zeit nach der Inokulation der Sporen in das subkutane Bindegewebe oder in die Venen tötete Tarozzi die Tiere. Da er

1) Vaillard et Vincent-Vaillard et Rouget, Contribution à l'étude du tetanus. (Ann. Pasteur. 1891—1892.)

2) Sanchez-Toledo et Velion, Arch. de méd. expér. 1890.

3) Tarozzi, G., Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVIII. No. 5.

durch Einlegen von Organstücken in Bouillon Tetanuskulturen erhielt, so schloß er daraus, daß die Tetanussporen in den tiefgelegenen Organen latent leben können. Kann man indessen nun von vornherein ausschließen, daß das mit jenen Organen erhaltene positive Resultat nicht auf das in denselben enthaltene Blut zurückgeführt werden muß? Das Vorkommen der Sporen im Parenchym der Organe läßt sich bei der Milz und dem Knochenmarke, in welchen eine lakunäre Zirkulation besteht, gut erklären, aber bei der Leber, der Lunge und den Nieren etc. müßte man notwendigerweise annehmen, daß die Sporen durch die dünnen Wände der Blutkapillaren hindurchgegangen sind. Hier erheben sich nun einige Fragen: Verhalten sich die Tetanussporen, welche ohne Zweifel eine gewisse Zeit lang im tierischen Organismus latent leben können, ebenso wie der Fraenkelsche Pneumococcus, d. h. können sie lange im Blutkreislauf latent leben? Wenn dem so wäre, so würde die Annahme von Vaillard richtig sein, d. h. die Sporen würden von den Leukocyten aufgenommen werden und in diesem Zustande zirkulieren. Oder ist auch die letzte Behauptung von Tarozzi richtig, daß die Sporen sich in den tiefgelegenen Organen aufhalten und hier eine bis jetzt unbestimmte Zeit lang latent leben können? Wenn dies auf Wahrheit beruht, so kann man fragen, wie lange Zeit nach der Inokulation in das subkutane Bindegewebe ist es möglich, die Tetanussporen im Blutkreislaufe nachzuweisen? Werden sie durch die Nieren ausgeschieden? Bis zu welchem Zeitpunkte läßt sich ihre Anwesenheit in den Organen nachweisen? In der Absicht, den gewöhnlichen Verhältnissen der Infektionen beim Menschen immer näherzukommen, habe ich mir vorgenommen, einige Erscheinungen der Latenz der Tetanussporen experimentell zu untersuchen, wenn dieselben nämlich ohne das im Nährboden enthaltene Toxin in das subkutane Bindegewebe inokuliert werden.

I. Ist es immer wahr, daß, wenn man bei Tieren den Tetanus hervorruft, der Bacillus sich nicht von der Impfstelle aus durch den ganzen Organismus verbreitet? Belfanti, Pescarolo, Hohlbeck, Haigler, Hochsinger, Vanni und Giarrè fanden den Tetanusbacillus im Blute der Tetanuskranken, Dor in der Cerebrospinalflüssigkeit, Nicolaier in der Ischiadicusscheide, Creite in der Milz und Schnitzler in den Lymphdrüsen. Vincent, der die mit Tetanus geimpften Meerschweinchen einer Temperatur von 42—42,5° unterwarf, erzielte einen ganz akuten Tetanus mit Verallgemeinerung der Infektion. In der Tat fand er den Tetanusbacillus im Blute, in der Leber, in der Milz, im Knochenmarke, im Gehirne etc. wieder¹⁾. Sanchez-Toledo und Velion nahmen an, daß der Bacillus in das Blut nur in den letzten Lebensstunden übertreten könnte. Ich habe nun 5 Meerschweinchen und 2 Kaninchen zu Untersuchungszwecken geopfert. Bei 3 Meerschweinchen und bei einem Kaninchen wandte ich ungefähr 6 Tage alte Bouillonkulturen an, welche Toxin, Sporen und vegetative Formen enthielten; in wenigen Tagen trat der Tod der Tiere infolge von Tetanus ein, und bei der kulturellen Untersuchung gelang es, Tetanuskulturen aus dem Blute, der Niere, der Leber, der Milz, der Lunge, den Lymphdrüsen und dem Knochenmarke zu erhalten. Zwei anderen Meerschweinchen und einem zweiten Kaninchen impfte ich ungefähr 10 Tage alte Kulturen ein,

1) Vincent, Contribution à l'étude du tetanus dit médical ou spontané. Influence de la chaleur. (Annal. Pasteur. 1904. No. 7.)

welche nur Sporen besaßen; die vegetativen Formen und das Toxin waren durch einstündige Erwärmung auf 75° beseitigt worden. Zusammen mit der Kultur injizierte ich wenige Tropfen Milchsäure und rief so wie bei den vorhergehenden Untersuchungen den Tod der Tiere infolge von Tetanus herbei. Auch bei diesen Tieren erhielt man aus dem Blute und den Organen Tetanuskulturen. Diese Versuche zeigen, daß die Verbreitung des Tetanusbacillus von der Impfstelle aus über den ganzen Organismus, wenn die Tiere an Tetanus sterben, eine konstante Tatsache ist.

II. Verimpft man atoxische Tetanussporen in das subkutane Bindegewebe oder in die Venen, so gelingt es, eine gewisse Zeit nach der Inokulation aus den Organen Tetanuskulturen zu erhalten. Tarozzi erhielt ein positives Resultat bei 3 Kaninchen und bei 3 von 6 Meer-schweinchen. Ich habe die Versuche an Kaninchen wiederholt, indem ich die atoxischen Sporen in das subkutane Bindegewebe verimpfte und habe positive Resultate erhalten; die Tiere, welche verschiedene Tage nach der Inokulation getötet wurden, lieferten mir Tetanuskulturen nicht allein aus den Organen, sondern auch aus dem Blute. Die Kulturen aus dem Blute indessen waren im Gegensatze zu denjenigen aus den Organen nicht immer positiv; ich wollte deshalb untersuchen, welche Beziehungen zwischen dem Vorkommen der atoxischen Sporen im Blute und in den verschiedenen Organen bestehen.

III. Wie lange Zeit nach der Inokulation der atoxischen Sporen in das subkutane Bindegewebe kann man ihr Vorkommen im Blute nachweisen?

Das letzte negative Resultat erhielt ich 7 Stunden nach der Inokulation bei Aspiration des Blutes aus der Vena femoralis. Das erste positive Resultat erhielt ich 12 Stunden nach der Inokulation bei Aspiration des Blutes direkt aus dem Herzen. Man kann also die Sporen schon wenige Stunden nach ihrer Inokulation in das subkutane Bindegewebe im Blute nachweisen. In diesen Fällen erhielt man natürlich positive Kulturen auch aus den Organen.

IV. Für die Kulturen, welche man aus den Organen erhält, muß man das in ihnen enthaltene Blut verantwortlich machen; oder ist es auch möglich, daß die Sporen die zarten Wände der Blutkapillaren durchdringen, um sich im Parenchym der Organe festzusetzen? Wenn diese letzte Annahme wahr ist, wie lange Zeit hindurch nach der Inokulation werden dann die Sporen im Blutkreislaufe vorhanden sein können?

6—8—13 Tage nach der Inokulation der Sporen erhielt ich Tetanuskulturen aus dem Blute der geimpften Tiere. Später als 13 Tage gelang es nicht mehr, eine positive Kultur aus dem Blute zu erhalten. 17 Tage nach der Inokulation erhielt ich das erste positive Resultat aus den Organen und ein negatives aus dem Blute. Dasselbe zeigte sich nach 25, 27, 36 und 55 Tagen des latenten Zustandes der Sporen. Der Umstand, daß man in allen diesen Fällen konstant negative Kulturen aus dem Blute und positive aus der Leber, der Niere, der Milz, der Lunge, den Lymphdrüsen und dem Knochenmarke erhielt, gab der Vorstellung eine immer größere Stütze, daß die Tetanussporen im Innern der Organe ein latentes Leben führen können. Man wurde in dieser Annahme um so mehr bestärkt, als es bei der histologischen Untersuchung des Knochenmarkes eines 8 Tage vorher mit atoxischen Sporen

geimpften Kaninchens gelang, mit Hilfe der Möllerschen Methode Körperchen gut sichtbar zu machen, die man ihrer Form, ihren Größenverhältnissen und ihrer spezifischen Färbung nach (Resistenz gegenüber der Entfärbung mit Mineralsäuren) mit Recht als Sporen deuten konnte; einige von ihnen waren frei, andere im Innern der Markzellen eingeschlossen. Bei einem anderen Kaninchen, dem ich 8 Tage vorher 2 ccm Kultur mit atoxischen Sporen eingeimpft hatte, führte ich eine Nadel in die Arteria pulmonalis ein und ließ dann unter gelindem Drucke 6 l steriler physiologischer Kochsalzlösung durch den kleinen Kreislauf strömen. Die Flüssigkeit floß wieder aus einer in die Brustorta eingeführten Hohlzahnadel vollkommen heraus. Auf die Oberfläche der Flüssigkeit wurde kein direkter Druck künstlich ausgeübt. Das Gefäß, welches sie enthielt, befand sich 80 cm über dem Tiere; der Versuch konnte gut ausgeführt werden, indem man sich ausschließlich auf den atmosphärischen Druck verließ. In dieser Weise wurden sicher, soweit es überhaupt möglich war, die Druckschwankungen auf der Oberfläche der Kapillaren vermieden. Ein Stück, daß man aus dieser auf diese Weise entbluteten Lunge entnahm, ergab in anaërobischer Kultur eine üppige Entwicklung einer Tetanuskultur. Positive Kulturen erhielt man auch aus der Milz, der Leber, der Niere und dem Knochenmarke.

Bei meinen Untersuchungen habe ich außerdem beobachtet, daß in den ersten Tagen nach der Inokulation der atoxischen Sporen in das subkutane Bindegewebe die kleinste Wunde in der Haut des Tieres oder auch eine kleine Blutansammlung genügt, um an dieser Stelle einen Tetanusherd entstehen zu lassen. Dies passiert indessen nicht, wenn eine gewisse Zeit seit der Inokulation vergangen ist, auch wenn man die Kaninchen sehr schweren operativen Eingriffen unterworfen hatte. Bei einem Kaninchen genügte 8 Tage nach der Inokulation eine kleine Incision, die zwecks Entnahme eines Tropfens Blutes gemacht worden war, um die Krankheit sich entwickeln zu lassen. Nach wenigen Tagen starb das Kaninchen an Tetanus, und an der verletzten Stelle des Ohres fanden sich bei der mikroskopischen Untersuchung die charakteristischen trommelschlägerähnlichen Formen des Bacillus. Dieselbe Erscheinung zeigte sich bei einem anderen Kaninchen, bei dem 5 Tage nach der Inokulation eine Exstirpation der Leistenröhren vorgenommen worden war. Das Kaninchen starb an Tetanus, und ich fand die charakteristischen Formen des Bacillus in einem zerfallenen Gerinnsel, welches sich in der Tiefe der Furche angesammelt hatte, die bei Kaninchen der Leistenfalte entspricht. Bei einem anderen Kaninchen unterband ich 6 Tage nach der Inokulation auf einer Strecke von ungefähr 2 cm die Vena femoralis; auch hier entwickelte sich ein Tetanusherd, und das Kaninchen erlag in wenigen Tagen. Für diese Fälle läßt sich leicht eine ausreichende Erklärung geben. Ist einmal bewiesen, daß die Tetanusspore einige Tage nach der Inokulation sich leicht im Blutkreislaufe findet, so versteht man, daß sich leicht ein Tetanusherd entwickeln wird, wenn eine Spore in ein Blutgerinnsel oder auch in eine Wunde gerät, wo sie infolge der Gewebnekrose einen für die Entwicklung von saprophytischen Keimen geeigneteren Nährboden findet; zu den Saprophyten muß man aber seinen biologischen Eigenschaften nach auch den Tetanusbacillus rechnen.

Die Tatsache, daß ich ein positives Kulturresultat aus dem Blute nur bis 13 Tage nach der Inokulation und nach den 13 Tagen konstant ein negatives aus dem Blute und ein positives aus den Organen erhalten

habe, ferner, daß ich im Innern der Knochenmarkszellen bei der histologischen Untersuchung die Sporen beobachtet und eine Tetanuskultur aus einer vollkommen entbluteten Lunge gewonnen habe, und endlich der Umstand, daß ich eine leichte Entwicklung des Tetanus in den ersten Tagen nach der Inokulation im Anschlusse an unbedeutende Hautwunden beobachtet habe, während diese Erscheinung selbst nach schweren operativen Eingriffen nicht auftrat, wenn seit der Inokulation eine gewisse Zeit verstrichen war, alle diese Tatsachen nun scheinen mich zu der Behauptung zu berechtigen, daß die Tetanussporen nach Erreichung des Blutkreislaufes sich im Blute nur in den ersten 10—15 Tagen aufhalten können, während sie sich nach und nach im Innern der Organe absetzen, in welchen sie eine mehr oder minder lange Zeit hindurch ein latentes Leben führen können.

Wie lange können nun die Sporen in den Organen ein latentes Leben führen? Sicherlich müssen sie durch die Schutzkräfte des Organismus einer beständigen Zerstörung bis zu ihrem völligen Verschwinden unterworfen werden. Können sie durch die Nieren ausgeschieden werden? Wyssokowitsch, der bei Infektionskrankheiten die Ausscheidung von Bakterien durch die Nieren studierte, nahm an (1886), daß dies nur dann möglich wäre, wenn in der Niere infolge derselben bakteriellen Toxine pathologische Veränderungen entstanden wären; durch die gesunde Niere aber gingen die Keime nicht in den Harn über. Seitdem ist viel über diese Frage gestritten worden, heute aber nähern sich die Pathologen der Meinung von Wyssokowitsch (Banti).

Indem ich mir die Geräumigkeit der Harnröhre zunutze machte, katheterisierte ich sie mit einem kleinen Nélaton, den ich einige Stunden liegen ließ, um eine große Menge Urins aufzufangen. Dieser steril aufgefangene Harn wurde geraume Zeit steril zentrifugiert und das Sediment anaerobisch in Bouillon kultiviert. Viermal habe ich den Versuch wiederholt und immer ein negatives Resultat erhalten. Zwei von den Kaninchen waren 24 Stunden und eins 5 Tage vorher inokuliert und auch von Tetanuskrämpfen befallen worden. Sicherlich berechtigen nur 4 Fälle nicht zu dem Schlusse, daß die Sporen nicht durch die Nieren ausgeschieden werden; man kann aber wenigstens aus ihnen schließen, daß das Verschwinden der Sporen aus dem Organismus zum großen Teile, wenn nicht ganz und gar, auf die Schutzkräfte desselben zurückgeführt werden muß, infolge deren die Sporen von den Phagocyten aufgenommen und rasch oder langsam zerstört werden. Bewahren nun die Sporen, die latent in den Geweben bleiben, ihre Virulenz lange, oder wird diese allmählich abgeschwächt? Einige meiner Versuche könnten mich zu der Annahme veranlassen, daß die Virulenz der in den Geweben latent lebenden Sporen immer mehr abnimmt; dieser Punkt bedarf jedoch noch weiterer Untersuchungen.

Tarozzi erhielt Tetanuskulturen aus den Organen noch $3\frac{1}{2}$ Monate nach der Inokulation, aber er verimpfte die Sporen direkt in das Blut. Ich habe sie dagegen in das subkutane Bindegewebe verimpft und bis zu 55 Tagen nach der Inokulation positive Kulturresultate erhalten. Bei 2 Kaninchen erhielt ich nach $2\frac{1}{2}$ Monaten aus zahlreichen mit allen Organen angestellten Kulturen ein negatives Resultat. Vielleicht wurden die von mir verimpften Sporen in den Lymphstationen, die sie zu passieren gezwungen waren, zum großen Teile aufgehalten und zerstört, so daß nur eine kleinere Anzahl den Blutkreislauf und die Organe erreichen konnte,

daher mußte sich auch ihre Zerstörung und ihr Verschwinden aus dem Organismus rascher vollziehen.

Auf Grund der vorhergehenden Untersuchungen könnte man folgendes behaupten:

1) Ruft man bei den Versuchstieren eine Tetanusinfektion hervor, so erhält man, nachdem die Tiere an Tetanus gestorben sind, aus dem Blute und den Organen Tetanuskulturen. Dies beweist, daß der Tetanusbacillus sich über den ganzen Organismus verbreiten kann, und daß sich sein Vorkommen nicht nur auf die Eingangspforte beschränkt.

2) Verimpft man unter die Haut nur Sporen, nachdem das Toxin und die vegetativen Formen durch Erwärmen auf 70—75° zerstört worden sind, so verbreiten sich die Sporen durch den ganzen Organismus. Schon wenige Stunden später konstatierte man ihre Anwesenheit im Blute. In den ersten 10—13 Tagen nach der Inokulation können die Sporen sich im Blutkreislaufe finden. Sie setzen sich dann in den Organen (Leber, Milz, Lunge, Nieren, Knochenmark, Lymphdrüsen u. s. w.) ab, wo sie ein latentes Leben führen können, während das Blut steril bleibt.

3) In den ersten Tagen nach der Impfung, wenn die Sporen sich im Kreislaufe befinden, genügt die kleinste Wunde oder ein kleines Blutgerinnsel, um die Sporen und also auch den Tetanus sich entwickeln zu lassen.

4) Die Sporen werden scheinbar nicht durch die Nieren ausgeschieden, sondern durch die Schutzkräfte des Organismus zerstört. Legt man 2 $\frac{1}{2}$ Monate nach der Inokulation in das subkutane Bindegewebe Kulturen mit den Organen an, so bleiben dieselben steril. Vergleicht man die Resultate dieser Untersuchungen mit den von Tarozzi erhaltenen, so findet man, daß sich diese Zerstörung der Sporen bei Inokulation unter die Haut scheinbar rascher vollzieht, als wenn man sie direkt in den Blutkreislauf verimpft.

Nachdruck verboten.

Ein Fall von Meningitis gonorrhoeica.

Von Dr. R. de Josselin de Jong,

Prosektor-Bakteriologe am Städt. Krankenhause in Rotterdam.

Die Seltenheit der Meningitis gonorrhoeica, die äußerst geringe Anzahl Mitteilungen, wobei auf Grund bakteriologischen Nachweises der *Gonococcus* unzweifelhaft als der Erreger einer reinen Meningitis angesehen werden kann, und endlich der klinisch eigentümliche Verlauf des nachstehenden Falles scheinen mir die Veröffentlichung desselben zu rechtfertigen.

Die klinischen Daten wurden mir gütigst von Herrn Dr. K. Rombach, Assistenzarzt des Krankenhauses in Rotterdam, mitgeteilt. Der Patient, ein junger Mann von 19 Jahren, wurde in der klinischen Abteilung des Herrn Dr. Hymans v. d. Bergh aufgenommen und von Herrn Dr. Rombach behandelt.

Der Krankengeschichte des letzteren entnehme ich folgendes:

H. R., 19 Jahre alt, Arbeiter, unverheiratet, wird am 30. Mai 1907 im Krankenhause aufgenommen.

Am 17. Mai war er von seiner Arbeit nach Hause gekommen, da er sich krank fühlte, nachdem er schon mehrere Tage vorher über Mattigkeit und Kopfschmerzen geklagt hatte. Er hatte dabei bemerkt, daß er den Mund nicht weit öffnen konnte; dies hatte aber nur einen Tag gedauert.

Er gibt an, im Anfang seiner Krankheit einige Tage deliriert zu haben, nachher nicht mehr.

Er klagt jetzt über Fieber, hustet ein wenig, wobei er etwas weißes Sputum auswirft, hat keinen Appetit, aber viel Durst. Der Stuhl ist ein wenig hart. Miktionsfrei. Er ist immer ein gesunder Junge gewesen, hat niemals Otorrhöe gehabt.

Kein Trauma in der Anamnese, kein Nasenbluten.

Jede Infektion venerischer Art wird geleugnet.

Während der Nacht schwitzt er stark. Er ist sehr abgemagert. Vater und (einzige) Schwester sind gesund, Mutter starb an Influenza.

Status praesens am 1. Juni 1907:

Patient ist vollkommen compos mentis, ist sehr blaß, hat keinen Herpes.

Zunge rot, feucht, ein wenig belegt. Pupillen gleich groß, reagieren gut auf

Licht. Augenbewegungen normal. Die Funktionen der Gehirnnerven zeigen keine Störungen.

Puls ist 68, regelmäßig, nicht dikrot. Respiration ruhig. Höchste Temperatur am 1. Tage 39,7° C.

In geringem Maße besteht Dermatographie.

Nackenstarre und das Kernig'sche Symptom sind in gewissem Maße zu konstatieren.

Keine Schmerzen bei Druck auf den Wirbeln. Kein Erbrechen.

Außer einem sehr geringen gedämpft tympanitischen Schall bei Perkussion der oberen linken Thoraxhälfte wird an den Organen der Brusthöhle nichts Abnormes gefunden.

Auch in der Bauchhöhle sind keine Anomalien zu finden. Leber und Milz sind nicht vergrößert; kein Meteorismus. Keine Roseolae. Keine Oedemen. Kniereflexe normal.

Der Urin enthält eine Spur Eiweiß, ist zuckerfrei. Im Sediment Eiterkörperchen. Diazoreaktion negativ.

Das Sputum ist mehrere Male von mir untersucht worden; Tuberkelbacillen sind nicht gefunden, auch keine Pneumokokken.

Ich habe am Blutserum die Widal'sche Probe (Typhus und Paratyphus) gemacht beide $\frac{1}{64}$ völlig negativ.

Als der Patient einige Tage im Krankenhause war, zeigte es sich, daß aus der Urethra eine eiterige Flüssigkeit gepreßt werden konnte; diese enthält massenhafte Gonokokken, fast in Reinkultur, intra- und extracellulär.

Nähere Untersuchung zeigt, daß eine Urethritis gonorrhoeica anterior besteht.

Die Temperatur ist intermittierend.

(Jetzt teilt der Patient mit, daß er am 9. Mai, also 3 Wochen vor seiner Aufnahme, zum letzten Male den Coitus ausgeübt habe, daß er nachher niemals Schmerzen während der Miktions und keinen Ausfluß aus der Urethra bemerkt habe.)

Am 18. Juni wird eine Lumbalpunktion gemacht; dabei zeigt sich der Druck im Spinalkanale erhöht; eine leichttrübe Flüssigkeit spritzt aus der Kanüle.

Nachdem 10 ccm entleert sind, tropft noch mehr Flüssigkeit heraus.

Die entleerten 10 ccm sind mir geschickt worden; ich habe darin weder Meningokokken noch Gonokokken finden können.

Inzwischen hat sich bei dem jungen Manne das Bestehen einer Meningitis immer klarer gezeigt.

Nackenstarre und Kernig's Symptom sind am 27. Juni sehr deutlich. Kniereflexe an beiden Seiten positiv. Der Patient magert sehr stark ab.

Es besteht starke Dermatographie.

Den 26. Juni wird wieder eine Lumbalpunktion gemacht. (Ueber das Resultat der bakteriologischen Untersuchung siehe unten.)

In den nächsten Tagen ist die Kraft der oberen Extremitäten etwas vermindert; die Reflexe sind nicht gestört, Sensibilität normal. Die Kraft der unteren Extremitäten ist auch etwas vermindert. Er kann wohl stehen, Knie- und Achillesreflexe sind links deutlich, rechts aber verschwunden. Die Plantarreflexe sind beiderseits ungestört, vielleicht etwas erhöht; kein Klonus. Keine Störungen der Sensibilität. Blasen- und Mastdarmerscheinungen fehlen. Kein Dekubitus. Der Bauch ist etwas eingesunken.

Am 2. Juli geringe Taubheit. Augenbewegungen normal, nur kostet es dem Manne viel Mühe, die beiden Augen maximal nach rechts zu drehen.

Schneller Wechsel der Farbe wird wahrgenommen. Abends starke Delirien. Der rechte Arm ist steif, das rechte Bein zeigt Konvulsionen. Der Urin läuft ihm spontan an.

Am nächsten Tage (3. Juli) ist er sehr benommen, hat Incontinentia urinae. Die Pupillen sind sehr erweitert, reagieren sehr wenig auf Licht, sind gleich groß. Lagophthalmos.

Jetzt wird wieder eine Lumbalpunktion gemacht: es werden 25 ccm einer leicht trüben Flüssigkeit entleert und unter möglichst streng aseptischen Kautelen in einem kleinen sterilen gläsernen Gefäß aufgefangen.

Der Druck im Spinalkanal war sehr erhöht. Von da an ist fortschreitende Besserung zu bemerken. Schon am nächsten Tage nach dieser Punktion ist der Patient auffallend besser; die Druckerscheinungen haben aufgehört; Patient ist ruhig und völlig bei Bewußtsein. Der Kopfschmerz hat sehr abgenommen. Die Incontinentia urinae ist vorüber; der Farbenwechsel hat aufgehört. Die Reflexe sind normal, ebenso die Sensibilität.

Am 9. Juli fühlt der Mann sich vollkommen wohl; während er angibt, im Laufe der vorigen Woche alles doppelt gesehen zu haben, sieht er jetzt wieder ganz normal.

Die Nackenstarre ist zum größten Teil verschwunden, das Kernig'sche Symptom ist noch in geringem Maße wahrnehmbar.

Heute, am 5. Aug., ist der Patient ohne irgendwelche Krankheitserscheinungen. Er ist fieberfrei, hat ausgezeichneten Appetit. Nackenstarre, Kernig'sches Symptom u. s. w. sind völlig verschwunden.

Aus obiger Krankheitsgeschichte erhellt, daß der in Rede stehende Patient Meningitis cerebrospinalis gehabt hat; daß er eine kurz vorher aquirierte Urethritis gonorrhoea hatte, daß die Reizerscheinungen, welche anscheinend auf sehr erhöhten Druck im Spinalkanal zurückzuführen sind, abgenommen haben, nachdem durch Lumbalpunktion der erhöhte Druck erniedrigt ist, und daß schließlich volle Genesung erreicht worden ist.

Sehr bemerkenswert ist hier die fast reine Meningitis ohne Symptom einer Myelitis oder Neuritis. Es wurden keine Parästhesien, keine Paresen oder Paralyzen wahrgenommen.

Rectumstörungen fehlten gänzlich; Blasenstörungen zeigten sich nur einen Tag, als der Patient ganz benommen war. Auch die Sensibilität hat keine Abweichungen gezeigt.

Das Fieber war immer intermittierend. Die Tatsache, daß auf eine primäre gonorrhoeische Infektion der Urethra eine Meningitis folgte, sowie das Fehlen irgend einer anderen plausiblen Ursache der letzteren, macht es von vornherein wahrscheinlich, daß ein kausaler Zusammenhang zwischen beiden besteht, mit anderen Worten, daß die Meningitis sich als eine durch Metastase der Gonokokken verursachte Erkrankung darstellt.

Betrachten wir, um die Richtigkeit dieser Anschauung zu prüfen, das Resultat der bakteriologischen Untersuchung der Spinalflüssigkeit, so ergibt sich folgendes:

Wie schon oben gesagt, habe ich am 1. Juni zum ersten Male die Punktionsflüssigkeit untersucht. Sie war leicht trübe; ich fand darin zwar viele Eiterkörperchen, aber weder Meningokokken noch Gonokokken.

Am 26. Juni bekam ich zum zweiten Male ein Röhrchen mit steril aufgefangenem Liquor cerebrospinalis. Diese Flüssigkeit war etwas weniger trübe als die erste, aber nicht ganz klar. Ich fand darin bei mikroskopischer Untersuchung eine Anzahl polymorphkerniger Leukocyten und viele Diplokokken vom Typus der Gonokokken. Diese lagen sowohl intra- als extracellulär. Aus der Flüssigkeit wurde auf Ascitesbouillon und Ascitesagar geimpft.

Am 4. Juli wurde abermals eine Lumbalpunktion gemacht. Diesmal war die Flüssigkeit wieder klarer als das vorige Mal und ich konnte

weniger Eiterzellen und auch weniger, aber sehr deutliche Gonokokken finden. Auch dieses Mal wurde auf Ascitesbouillon und Ascitesagar geimpft. Das Resultat dieser Impfungen war immer dasselbe. Es wurde zur Impfung die Flüssigkeit zentrifugiert und mit der Oese aus dem unteren Teil etwas genommen und auf Ascitesagar gestrichen (zwei Teile Fleischwasser-Pepton-Agar- mit einem Teil steriler Ascites-Flüssigkeit). Der übrige Teil der Punktionsflüssigkeit wurde in ein Röhrchen mit Ascitesbouillon gegossen. Auf dem Ascitesagar zeigten sich nach 24 Stunden kleine Kolonien mit scharfen Rändern, hellgrau gefärbt, durchschimmernd und von typisch zäh-schleimigem Aspekt. Während im Anfange die Ränder scharf blieben, bildete sich nach wenigen (2—4) Tagen eine zarte vorgeschobene Randzone mit einem etwas eingesunkenen nabelartigen Zentrum. Die Kolonien sind schleimig und können mit der Oese als eine zähe Masse vom Nährboden aufgehoben werden. In den jungen Kolonien fand ich mikroskopisch schöne charakteristische kaffeebohnenähnliche Diplokokken. Schon nach 24 bis 36 Stunden fand ich zahlreiche Degenerationsformen.

In Ascitesbouillon (Loefflersche Bouillon und Ascites $\bar{a}\bar{a}$) bildete sich an der Oberfläche oder am Rande des Glases eine etwas flockige, schleimige Kultur; die Bouillon selbst wurde nicht diffus getrübt. Durch Schütteln zeigte sich in der Bouillon die Gonokokkenkultur als eine kleine fadenziehende Flocke. Nach wenigen (ungefähr 5) Tagen sank die Flocke auf den Boden.

Die Kokken wachsen nicht bei Zimmertemperatur. Auch konnte ich sie nicht auf gewöhnlichen Agar oder Bouillon weiterimpfen.

Bei Anwendung der Gramschen Methode färbten sich die Kokken nicht. Auf Grund dieser kulturellen, morphologischen und färberischen Eigenschaften steht es fest, daß wir hier Gonokokken vor uns haben.

Verwechselung mit Pneumokokken oder Staphylokokken ist nicht wohl möglich; nur der Meningococcus kommt bei näherer Erwägung in Betracht.

Ich habe in den 2 letzten Jahren verschiedene Fälle von Meningitis cerebrospinalis epidemica bakteriologisch untersucht und den Meningococcus reingezüchtet. Aber ich habe niemals Kolonien von so zäh-schleimigem Aspekt wie in diesem Falle bekommen. Auch blieb bei der Bouillonkultur die Nährflüssigkeit nicht so klar, während morphologisch die Kaffeebohnenform in den jungen Kulturen in der Regel nicht so ausgeprägt ist, wie in der Gonokokkenkultur; die Degenerationsformen bilden sich auch nicht so schnell wie bei den Gonokokken. Daß übrigens viel Uebereinstimmung zwischen Meningokokken und Gonokokken besteht, davon habe ich mich bei dieser Untersuchung aufs neue überzeugen können.

Aus Obigem geht hervor, daß der beschriebene Fall als Meningitis gonorrhoea betrachtet werden muß. Es liegt auf der Hand, hier an eine Verschleppung des infektiösen Virus auf dem Wege der Blutbahn zu denken.

Wie pyämische Eitererreger, so kann auch der Gonococcus durch den Blutstrom verschleppt werden; gonorrhoeische Entzündungen der Gelenke, Sehenscheiden und Herzklappen sind wohl bekannt.

Der Nachweis von Gonokokken im Blute Gonorrhoeischer bei Endocarditis gonorrhoea ist schon von Blumer und Tayer geliefert worden (1896). Die Untersuchungen von P. Krause (1904), Barbiani u. A.

haben weiter die gonorrhoeische Allgemeininfektion (Gonokokkämie) durch hämatogene Verschleppung des Bakteriums festgestellt.

Ich habe bei unserem Kranken keine bakteriologische Untersuchung des Blutes angestellt. Da das Herz keine abnormen Erscheinungen zeigte, der Nachweis der Gonokokken in der Spinalflüssigkeit mehrfach unzweifelhaft gelungen war, so lag hier kein Grund vor, den kranken Mann mit Untersuchungen zu quälen, die doch nicht viel Nutzen für die Kenntnis seiner Krankheit versprochen.

Reine Meningitiden gonorrhoeischer Art gehören zu den größten Seltenheiten. Im Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann (1903), zu dem Neisser und Scholtz den Abschnitt über Gonorrhoe geliefert haben, werden wohl Neuritiden und Myelitiden als gonorrhoeische Erkrankungen des Nervensystems genannt, eine Meningitis gonorrhoeica aber wird von diesen Autoren nicht erwähnt. In der bakteriologischen Literatur der letzten Jahre habe ich keinen einzigen Fall beschrieben gefunden. In der jüngst erschienenen Monographie von Alex. Paldrock finde ich unter einer großen Anzahl Gonokokkenmetastasen verschiedener Art nur einen Fall von gonorrhoeischer Meningitis erwähnt. Er meldet, daß d'Amato (1900) bei einem Kinde mit heftiger Blennorrhoe den Exitus unter meningitischen Symptomen eintreten sah; er schloß auf eine gonorrhoeische Meningitis, obgleich eine Sektion nicht gemacht werden konnte. Ein bakteriologischer Nachweis der Gonokokken im meningitischen Exsudat ist also nicht geliefert worden. Die Mitteilung von d'Amato habe ich nicht im Original gelesen. Myelitis (eventuell Meningomyelitis) gonorrhoeica ist mehrmals beobachtet worden. Der erste, der eine Paralyse der unteren Extremitäten als Folge einer gonorrhoeischen Infektion erwähnt, war Stanley (1833). Charcot leugnete die gonorrhoeische Infektion des Nervensystems und erklärte die Erkrankung dieses Systems als das Resultat einer reflektorischen Reizung des Rückenmarks.

Die Reflextheorie hat übrigens längere Zeit in der Beurteilung dieser Lähmungen eine große Rolle gespielt. Aufgestellt von Stanley und Graves (1833), hat sie sich bis in den Anfang der 60er Jahre gehalten. Seitdem haben diese Reflexerkrankungen des Rückenmarks eine große Einschränkung erfahren. Wie v. Leyden schon längst festgestellt hat, sind die meisten Fälle der sogenannten Paraplegiae urinae der Gonorrhoe, resp. deren Folgen zuzuschreiben. Seine Worte sind: „Der größte Teil dieser so viel diskutierten Fälle gehört unstreitig den Gonorrhöen an.“ Er hielt es aber damals (1892) für unentschieden, „ob der spezifische Coccus bei diesen Rückenmarkserkrankungen mitbeteiligt ist, ob die Fortsetzung eines Entzündungsreizes per contiguitatem oder ob vielleicht die Einwirkung eines spezifischen Toxins anzunehmen ist“.

Der unanfechtbare Nachweis von Gonokokken im Blute (siehe oben) macht es uns jetzt klar, daß in den meisten Fällen wohl an eine direkte Beteiligung des Gonococcus zu denken ist. Unser Fall ist dafür ein illustrierendes Beispiel. Immerhin ist die Einwirkung eines Toxins, wenigstens für einen Teil der Fälle, nicht gänzlich von der Hand zu weisen. Dies ist sowohl durch die Versuche von Wassermann an sich selbst als durch die Experimente von Moltschanoff an Mäusen wahrscheinlich gemacht.

Wünschenswert bleibt es, daß soviel wie möglich in den Fällen von zweifelhaften gonorrhoeischen Nachkrankheiten entzündlicher Art die Diagnose durch bakteriologische Untersuchung sichergestellt werde.

In Fällen von Myelitis wird dies wohl *durante vita* nicht möglich sein; da entscheidet das klinische Bild und der klinische Verlauf; wo es sich aber um Arthritiden, Meningitiden u. s. w. handelt, da soll man eine Begründung des kausalen Zusammenhanges mit gonorrhöischer Infektion durch Nachweis des spezifischen Virus erstreben.

Im Jahre 1888 publizierten Hayem und Parmentier einen Beitrag zur gonorrhöischen Meningomyelitis in der *Revue de médecine* und im selben Jahre auch Chavier und Fevrieran; 1891 folgte eine Mitteilung von Spillmann und Haushalter, ebenfalls in der *Revue de médecine* und eine Arbeit von Raymond in der *Gazette des hôpitaux*. Die Fälle von Raymond, Spillmann und Haushalter wurden durch den Einfluß der ablehnenden Meinung Charcots nicht ernst genug genommen, bis 1892 der bekannte Artikel v. Leydens folgte: Ueber gonorrhöische Myelitis (*Zeitschr. f. klin. Med.* Bd. XXI). Doch ist der v. Leydensche Fall nicht ganz einwandfrei, da der *Gonococcus* nicht gefunden wurde. v. Leyden schreibt: „Der Zusammenhang der Myelitis mit der Gonorrhö scheint mir nicht zweifelhaft, obwohl es nicht gelungen ist, Gonokokken nachzuweisen, aber auch keine anderen Bakterien. Es steht also der strikte Nachweis noch aus, aber die Anzahl der Beobachtungen, die Besonderheit ihrer Entwicklung und das Fehlen jeder anderen plausiblen Ursache läßt die Aetiologie als so wahrscheinlich erscheinen, daß sie allseitig als tatsächlich acceptiert ist.“

Im selben Jahre schrieb Dr. Engel-Reimers seine Beiträge zur Kenntnis der gonorrhöischen Nerven- und Rückenmarkserkrankungen in den Jahrbüchern des Hamburger Krankenhauses. Er erwähnt 2 Formen:

- 1) Die Polyneuritis gonococcica;
- 2) die Meningitis spinalis gonococcica.

Er sagt u. a.: „Die Gonorrhöe kann Erkrankungen der Nervenwurzeln wie der peripheren Nerven erzeugen. Die Pathologie des Trippers ist damit aber noch nicht erschöpft; es ist vielmehr wohl zweifellos, daß in allerdings seltenen Fällen auch entzündliche Prozesse in den Hüllen des Rückenmarks durch ihn hervorgerufen werden“, mit anderen Worten, daß es auch eine gonorrhöische Spinalmeningitis gibt.

Fälle einer solchen gonorrhöischen Meningitis, worin so unzweifelhaft wie in meinem Fall durch bakteriologischen Nachweis die gonorrhöische Art des Prozesses erwiesen ist, habe ich nirgendwo vermeldet gefunden. Eulenburg (*Deutsche med. Wochenschr.* 1900) erwähnt als gonorrhöische Nervenerkrankungen: neuralgische Affektionen, Muskelatrophien und atrophische Lähmungen, Neuritiden und Myelitiden. Eine Meningitis beschreibt er nicht.

Im obigen Fall ist alles vorhanden, was die Diagnose: gonorrhöische Meningitis sicherstellen kann.

Vom klinischen Standpunkte ist beachtenswert:

- 1) die deutlichen Symptome einer Meningitis cerebrospinalis;
 - 2) das Fehlen irgendwelcher Erscheinungen von Myelitis, sowie das Fehlen von Gonokokkenmetastasen in anderen Organen;
 - 3) die gonorrhöische Infektion der Urethra kurze Zeit vor der Krankheit;
 - 4) das Fehlen einer anderen plausiblen Ursache für die Meningitis.
- Ferner ist von großem Interesse:
- 5) der ziemlich gutartige Verlauf (fast immer *compos mentis*; kein Erbrechen u. s. w.), auch in dem Höhestadium der Krankheit;
 - 6) der frappante therapeutische Erfolg der Punktion.

Paldrock sagt auch bei der Myelitis gonorrhoeica, daß die Prognose relativ nicht ungünstig zu stellen ist. Eulenburg und v. Leyden haben dasselbe betont. Wir wissen, daß auch die Peritonitis gonorrhoeica gutartiger ist als irgend eine andere eiterige Peritonitis.

Unsere oben erwähnte Erfahrung bei der Meningitis gonorrhoeica steht hiermit in Einklang. Schon die Entleerung von 25 ccm der Spinalflüssigkeit, also die reine Druckverminderung im Spinalkanal, hat die Besserung eingeleitet. Schließlich ist glatte Genesung erreicht worden.

Vom bakteriologischen Standpunkte ist der Nachweis des Gonococcus im Liquor cerebrospinalis von Interesse. Soweit mir bekannt, ist dies der erste Fall dieser Art und liefert der in Rede stehende Fall somit ein wertvolles Beispiel einer hämatogenen Metastase des Gonococcus in den Hüllen des Rückenmarks, schon innerhalb weniger Wochen nach der primären Infektion.

Rotterdam, August 1907.

Literatur.

Handbuch der pathogenen Mikroorganismen von Kolle und Wassermann. Bd. III. Paldrock, Alex., Der Gonococcus Neisseri (1907). (Mit ausgebreiteter Literaturangabe.)

Eulenburg. Ueber gonorrhoeische Nervenerkrankungen. (Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 43.)

v. Leyden, Ueber gonorrhoeische Myelitis. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XXI. 1892.)

Spillmann und Haushalter, Revue de méd. 1891. Août.

Hayem und Parmentier, Revue de méd. 1888.

Raymond, Gazette des hôpitaux. 1881.

Engel-Reimers, Jahrbücher des Hamburger Krankenhauses. 1892.

v. Leyden, Deutsche med. Wochenschr. 1892. No. 27/28.

Moltschanoff, Münch. med. Wochenschr. 1899.

Blumer und Tayer, Centralbl. f. Bakt. etc. 1896.

Krause P., Zwei Fälle von Gonokokkensepsis mit Nachweis der Gonokokken im Blute bei Lebzeiten der Patienten. (Berl. klin. Wochenschr. 1904.)

Nachdruck verboten.

Zur Frage über die Aetiologie der Pellagra.

Von Constantin v. Deckenbach,

Privatdozent an der kaiserl. Universität zu St. Petersburg.

„Die Aetiologie der Pellagra ist noch völlig unaufgeklärt.“ Mit diesen Worten faßte unlängst einer der hervorragenden Pellagraforscher den gegenwärtigen Stand der Frage zusammen¹⁾. Es steht aber als Tatsache im großen und ganzen fest, daß ein enger Zusammenhang zwischen Mais und Pellagravergiftung existiert, und diese Auffassung konnte auch durch die neueren Arbeiten nicht erschüttert werden. Jedoch wird die Ursache der eventuellen Toxizität dieser Getreideart von den einzelnen Autoren verschieden aufgefaßt. Mit dem Erscheinen der bahnbrechenden Arbeiten Lombroso's²⁾, dem wir die Grundlegung der toxicozoetischen

1) v. Neusser, Edm., Ueber Pellagra. (Vortrag, gehalten in der Versammlung deutscher Naturforscher und Aerzte zu Meran im Jahre 1905. Siehe Referat Neue Freie Presse, 3. Okt. 1905.)

2) Lombroso, Trattato della Pellagra. Torino 1892 und andere Publikationen desselben Autors.

Theorie verdanken, sehen wir schon zwei verschiedene Richtungen in der Pellagraforschung, eine bakteriologische und eine mykologische.

Die Mehrzahl der Forscher untersuchte verschiedene Bakterienarten, die sie für Erreger der Pellagra hielten (Cuboni, Majiocchi, Heider und Paltauf, Bordoni-Uffreduzzi, Ottolenghi, De Giaxa, Monti e Tirelli, Carraroli etc.). Im Laufe der letzten Jahre sind nun mehrere Arbeiten erschienen, welche die Pellagraforschung in andere Bahnen führen, indem sie eine methodische Untersuchung sämtlicher, auf dem Mais vorkommenden Pilzarten, hauptsächlich der Hyphomyceten, darstellen sollen (Gosio, Cenni e Besta, Ferrati, Antonini, Di Pietro u. A.). Die letzteren beschäftigen sich mit den verschiedenen Varietäten der Penicillien und Aspergillen und beschuldigen diese als die Urheber der Pellagra.

Im Jahre 1905 wurde in einer botanischen Zeitschrift eine Arbeit von Tiraboschi¹⁾ veröffentlicht, in welcher neben *Aspergillus* und *Penicillium* auch *Oospora verticilloides* Saccardo einer eingehenden Untersuchung unterworfen wurde.

Im Interesse der Sache sei hier hervorgehoben, daß ich bereits im Jahre 1895/96 ebendieselben Untersuchungen über *Oospora verticilloides* Sacc. ausgeführt und die Resultate in Jahre 1896—1899 in russischer und deutscher Sprache veröffentlicht habe²⁾.

Die Ergebnisse meiner Untersuchungen sind dem Verfasser der oben erwähnten botanischen Arbeit leider unbekannt geblieben; da nun meine Arbeit einerseits dieselben Tatsachen enthält, die von Tiraboschi als neu publiziert werden, andererseits aber noch manche andere, die von Tiraboschi noch nicht entdeckt worden sind, so sei es mir gestattet, hier das schon Veröffentlichte nochmals kurz anzuführen.

Die Frage nach den Ursachen der berüchtigten Pellagra — habe ich in einer von den oben zitierten Abhandlungen geschrieben³⁾ — steht mit einer der Kulturpflanzen Bessarbiens, dem Mais, im nächsten Zusammenhang.

Die unter dem Namen Pellagra bekannte Krankheit ist in Italien, Griechenland, Oesterreich (Bukowina), Rumänien und allen den Ländern, wo der Mais das Hauptnahrungsmittel der Bevölkerung bildet, äußerst verbreitet.

Die Frage über das Vorkommen der Pellagra in Rußland wurde schon im Jahre 1887 von dem Semstwoarzte M. J. Cholmski aufgeworfen, der das Auftreten der Krankheit in Bessarabien feststellte.

Aus den medizinischen Berichten geht hervor, daß man in Bessarabien mit der Pellagra als einer Krankheit zu rechnen hat, die hinsichtlich ihrer Bedeutung, was öffentliche Gesundheitspflege anbetrifft, nicht hinter Pocken, Masern und Typhus zurücksteht.

Die Pellagra führt gewöhnlich zu Geisteskrankheiten, da ein gewisser Prozentsatz der Pellagrosen an Psychosen leidet, die die Unterbringung der

1) Tiraboschi, Sopra alcuni ifomiceti del mais guasto die regione pellagrosa. [Nota 1.] Generi *Oospora*, *Aspergillus*, *Penicillium*. (Annali di Botanica. Vol. II. 1905. p. 137.)

2) v. Deckenbach, (I.). Zur Biologie der *Oospora verticilloides* Sacc. (Travaux de la Société imp. des natural. de St. Pétersbourg. Comptes rendus des séances. 1896. No. 4. p. 130—131. — (II.) Die Pilze Bessarabiens. (Scripta botanica Horti Universitatis Petropolitanae. Heft 15. 1898. p. 45.) — (III.) Die Pilzkrankheiten der Kulturgewächse des bessarabischen Gouvernements. (Scripta botanica Horti Universitatis Petropolitanae. Heft 15. 1899. p. 5.)

3) Deckenbach, l. c. (III.).

Kranken in einer Irrenanstalt notwendig macht. Kann die Krankheit nicht geheilt werden, so endet sie nach jahrelangen qualvollen Leiden mit dem Tode.

Nichts garantiert uns dafür, daß die Pellagra aus Bessarabien nicht auch in andere Distrikte Rußlands eindringen kann, da der Mais nicht nur in Bessarabien, sondern auch in vielen anderen Gouvernements Südrußlands und im Kaukasus angepflanzt wird. Wir haben schon jetzt Beweise, daß diese Krankheit sich auch über die Grenzen Bessarabiens verbreitet hat, da man sie schon jenseits des Dnjestr im Chersonschen Gouvernement beobachtet hat¹⁾.

Die Aetiologie dieser Krankheit ist ungeachtet der großen Zahl von Forschern, die auf diesem Gebiet gearbeitet hatten, bis jetzt vollkommen unaufgeklärt geblieben. Alle aber stimmen darin überein, daß die Pellagra durch den Genuß von Mais von schlechter Qualität verursacht wird. Worin aber nun die Veränderungen bestehen, die den Mais gesundheitsschädlich machen, wodurch sich solcher verdorbener Mais von gutem unterscheidet und durch welche Ursache jene Veränderungen hervorgerufen werden, ob durch Pilze, Bakterien oder Einfluß anderer Art — das sind alles Fragen, die bis jetzt noch offen geblieben sind.

Nach dem Studium der Literatur über die Pellagra und die verschiedenen Theorien über die Aetiologie dieser Krankheit kam ich noch während meiner Reise durch Bessarabien zu der Ueberzeugung, daß vom Standpunkte des Mykologen aus vor allem die Frage aufgeworfen werden muß, ob in den Gegenden, wo die Pellagra durch den Genuß von Mais verursacht wird, dieses Getreide nicht irgend welchen bakteriellen Krankheiten oder Pilzkrankheiten unterworfen ist. Meiner Meinung nach ist die Frage über die Aetiologie der Pellagra eng mit der Frage über die Krankheiten des Mais verknüpft. Daraus ergab sich die Notwendigkeit einer sorgfältigen Untersuchung dieser letzteren überall, wo der Maisgenuß Erkrankungen nach sich zieht.

Während meiner Untersuchungen über die Krankheiten der Kulturgewächse Bessarabiens beschränkte ich mich anfänglich nur auf die Krankheiten der Obstbäume. Zufällig nur stieß ich auf eine Aufgabe, deren soziale Bedeutung unvergleichlich wichtiger war, als die der Obstbaumkrankheiten; es war dieses eine Frage, deren wissenschaftliche Erforschung an die erste Stelle zu setzen, ich mir zur Pflicht machte.

Bei meinen Untersuchungen fand ich nämlich einen in Bessarabien noch nicht beobachteten Pilz, *Oospora verticilloides* Sacc., der, auf der lebenden Maispflanze parasitierend, eine Krankheit der Maiskörner verursachte.

Im Laufe des 1895—96sten akademischen Jahres setzte ich die Untersuchungen über Morphologie und Biologie der *Oospora verticilloides* fort und erhielt Tatsachen²⁾, die mich noch mehr in der Voraussetzung bestärkten, daß der Mais gerade durch diesen Pilz schädlich ist und befähigt wird, die Pellagra hervorzurufen.

In Bessarabien ist *Oospora verticilloides* Sacc. sehr ver-

1) Vergl. Aerztliche Chronik des Chersonschen Gouvernements vom Jahre 1893. No. 11, 12 und 14.

2) Die vorläufige Mitteilung wurde in der Sitzung der kaiserl. St. Petersburger Naturforschergesellschaft (botanische Abteilung) am 17. April 1896 gemacht. Das Referat unter dem Titel: „Zur Biologie der *Oospora verticilloides* Sacc.“ findet sich in den Protokollen für das Jahr 1896. No. 4. p. 130.

breitet und wird besonders reichlich in den nördlichen Kreisen ¹⁾ (Chotinski, Belezki, Ssorotzki) dieses Gouvernements angetroffen.

„Meiner Meinung nach — habe ich in der oben erwähnten anderen Abhandlung geschrieben ²⁾ — bietet das größte und vielseitigste Interesse das Vorkommen eines italienischen Pilzes, *Oospora verticilloides* Sacc. auf dem Maiskorn Bessarabiens.

„Indem ich hauptsächlich meine Zeit dem Studium der Pilzkrankheiten der Kulturgewächse widmete, richtete ich meine besondere Aufmerksamkeit auf die Erkrankungen, welchen der Mais, die verbreitetste Kornpflanze Bessarabiens, unterworfen wird.

„Es ist kein Zweifel, daß die Untersuchungen in dieser Richtung von großer Bedeutung für Hygiene, sowie für die öffentliche Gesundheitspflege sind.

„Damit will ich gesagt haben, daß das Erforschen der Mikroorganismen des Maiskorns in betreff der Aetiologie und Prophylaxe der Pellagra besonders wichtig ist.

„Diese gefährliche Krankheit, die zum Wahnsinn führt und in Italien wüthet, ist auch bei uns in Bessarabien ziemlich weit verbreitet — es ist nicht schwer, sich davon aus den medizinisch-statistischen Daten zu überzeugen ³⁾ — in den Gegenden, wo die Bevölkerung sich fast ausschließlich vom Maiskorn ernährt.

„Als Tatsache steht im großen und ganzen fest, nach den Arbeiten der italienischen und deutschen Forscher, daß die Pellagra in Europa gleich nach Einführung der Maiskultur aufgetreten ist; daß diese Krankheit auf eine Vergiftung durch Produkte einer chemischen Umwandlung des Maiskorns unter Mitwirkung von Mikroorganismen zurückzuführen ist, und daß in den chemischen Veränderungen, welche das Maiskorn unter Mitwirkung von Bakterien und Pilzen erleiden kann, der ätiologische Zusammenhang mit der Pellagra zu suchen ist ⁴⁾.

„In dieser Hinsicht gebührt der oben besprochene Pilz einer sorgfältigsten Erforschung; außerdem hat *Oospora verticilloides* das volle Recht auf die Aufmerksamkeit der Mykologen, als Parasit einer der verbreitetsten Kornpflanzen, welche Millionen von Menschen der Alten und Neuen Welt ernährt.

„Das, was wir in der Literatur über diesen Pilz finden können, beschränkt sich fast nur auf die Aufzählung der systematischen Merkmale.

„Bis jetzt wurde *Oospora verticilloides* nur in Italien gefunden. Saccardo ⁵⁾ entdeckte diesen Pilz auf feuchten Maiskörnern und beschrieb ihn zuerst.

„Später hat Cuboni ⁶⁾ *Oospora verticilloides* im Jahre 1882 auf Maiskolben, die lange Zeit auf dem Boden lagen, gefunden. Diesen Pilz sehen beide Forscher als einen Saprophyten an.

„Cuboni bemühte sich, eine Reinkultur der *Oospora verticilloides* vergeblich zu erhalten.

1) Diese Kreise geben zu gleicher Zeit den größten Prozentsatz an Pellagrösen.

2) I. c. Deckenbach (II), p. 48—50.

3) Medizinisch-statistische Uebersicht Bessarabiens f. 1894, 1895, 1896. [Russisch.]

4) Lombroso, C. Trattato profilattico e clinico della pellagra. Torino. 1892.

5) Saccardo, Fungi italici delineati f. 879. „In cariopsidibus maceratis Zeae Maydis, Padova et Conegliano, Italiae borealis.“

6) Cuboni, G., Micromiceti delle cariossidi di grano turco in rapporto colla pellagra. 1892.

„Hier führe ich die Ergebnisse meiner eigenen Untersuchungen, welche teils im Herbst 1895, teils im Jahre 1896 von mir ausgeführt wurden, über diesen interessanten Pilz an.

„*Oospora verticilloides* ist überall in Bessarabien verbreitet. Besonders üppig fand ich denselben in den nördlichen Distrikten dieses Gouvernements.

„Im Anfang September habe ich *Oospora verticilloides* im freien Felde als Schmarotzer¹⁾ auf Maispflanzen angetroffen; der Pilz war als ein weißes Schimmelgespinnst unter den Deckblättern der reifen Maiskolben leicht zu bemerken; der Pilz soll sich vom überragenden Schopfe der fadenförmigen Griffel aus verbreiten, während das Korn noch milchreif ist, und auf diese Weise bis zum versteckten Fruchtknoten vordringen.

„Auf reifen Maiskolben sind die mit *Oospora verticilloides* infizierten Körner leicht von den unbeschädigten zu unterscheiden. Das erkrankte Korn macht den Eindruck, als ob es in einer oder in zwei Richtungen hin gespalten wäre, und diese weißen, wie mit Kalk gefüllten Risse heben sich scharf auf dem bernsteingelben Grunde des Korns hervor. Oft sind die Ränder dieser Risse nach außen umgebogen, und aus denselben krümelt sich ein weißes mehlähnliches Sporenpulver des Pilzes heraus.

„Schließlich entstehen bisweilen ziemlich große Vertiefungen, so daß solche wie ausgenagte Körner ihrem Aussehen nach kariösen Zähnen ähneln.

„Kulturen der *Oospora verticilloides* bekommt man ziemlich leicht auf Agar-Agar, Kartoffeln und Fleisch-Pepton-Gelatine, wobei das letzte Substrat sich von dem Pilze stark verflüssigt.

„Er wächst auch auf dem sterilisierten Maiskorn und Maismehl; doch zeigt diese Kultur folgende Eigentümlichkeiten: Das Mycel, welches anfangs von weißer Farbe ist, wie auf anderen Substraten, geht in 3—4 Wochen etwas ins Rosa über; die Farbe verdunkelt sich mehr und mehr und in 6—8 Wochen sieht die Kultur ganz violett aus²⁾.

„Die mit 90-proz. Alkohol angestellten Auszüge von diesen künstlichen Kulturen der *Oospora verticilloides* auf dem Maiskorn besitzen eine prachtvolle rubinrote Färbung und enthalten eine viel größere Oelmenge als wie die, welche im normalen Maiskorn zu sein pflegt.

„Bei der spektroskopischen Untersuchung beobachtet man eine totale Absorption der stärker brechbaren Strahlen des Spektrums, vom Absorptionsstriche E angefangen.

„Ein Zusatz von Alkalien verändert das rubinrote Pigment in ein violettes. Das Pigment scheint dem des Mutterkorns sehr ähnlich zu sein.

„Ich bemerke hier, daß ich den oben angeführten Tatsachen einen besonderen Wert beilege.

„Diese meine Beobachtungen brachten mich, als ich sie mit anderen Tatsachen zusammenstellte — hier wäre es zu lang, sie zu berühren — zu der Ueberzeugung, daß diesem Pilze, der auf den Maiskolben parasitiert, eine solche Rolle betreffs der Pellagra zu-

1) Das heißt: parasitierend.

2) In meiner oben zitierten Mitteilung (Compt. rend. des séances soc. imp. des natur. de St. Pétersbourg I. c. p. 130) habe ich auch darauf hingewiesen, daß ich eine ebensolche rosaviolette resp. lila Färbung an den Spalten der Körner der von *Oospora verticilloides* befallenen Maiskolben in der Natur beobachtet habe.

zuschreiben ist, wie sie *Claviceps purpurea*, das Mutterkorn, in den Epidemien der Kribbelkrankheit und den Erscheinungen des sogenannten Ergotismus spielt.“

Zu den oben angeführten Tatsachen muß ich hier noch hinzufügen:

1) Daß ich aus dem alkoholischen Extrakt der Oosporenkultur auf sterilisiertem Mais eine große Menge eines rubinroten Oeles erhielt.

2) Das Pigment kann von dem rubinroten Oel leicht durch Ausschütteln mit Alkalien getrennt werden.

3) In Essigester gelöst, besitzt das Pigment ein charakteristisches Absorptionsspektrum; demnach ist die Anwesenheit des Pigmentes im Maismehl durch spektroskopische Untersuchung sehr leicht zu entdecken. Somit könnte das Pigment gleichsam als Indikator der Anwesenheit von *Oospora verticilloides* dienen, genau so, wie bei der Nahrungsmittelanalyse die Anwesenheit von Mutterkorn im Mehl spektroskopisch festgestellt werden kann.

4) Aus dem alkoholischen Evaporat können toxisch wirkende Substanzen gewonnen werden, die dem Pellagrozein Lombrosos und dem „olio rosso-rubino del maíz guasto“ entsprechen¹⁾.

5) Die von mir künstlich erhaltenen Kulturen von *Oospora verticilloides* Sacc. auf sterilisiertem Mais zeichnen sich durch diejenigen Eigenschaften aus, welche nach den Arbeiten Lombrosos für pellagrogenen Mais charakteristisch sind¹⁾. Ich bin der Ansicht, daß eine solche vollkommene Uebereinstimmung keineswegs eine zufällige sein kann.

Eine ausführlichere Besprechung der oben angeführten Tatsachen, womit eine neue Auffassung der Aetiologie der Pellagra angestrebt wird, soll demnächst in einer besonderen Abhandlung erscheinen — worauf hier nur hingewiesen sein möge.

Nachdruck verboten.

Veränderungen an Nagana-Trypanosomen durch Igelpassage.

[Aus dem Institut für experimentelle Therapie an den allgem. Krankenanstalten in Düsseldorf. Direktor: Prof. Wendelstadt.]

Von T. Fellmer, Düsseldorf.

Mit 1 Tafel.

Während unserer farbentherapeutischen Versuche an mit Nagana-Trypanosomen geimpften Tieren infizierte sich zufällig ein Igel, der ein naganakrankes Meerschweinchen angefressen hatte. Der Igel erlag der Infektion. Milzausstriche zeigten zahlreiche Trypanosomen und die Ueberimpfung auf eine Ratte fiel positiv aus. Die Ratte (Ratte 1) starb nach 14 Tagen an Trypanosomiasis.

Bei weiteren Ueberimpfungen dieses Trypanosomenstammes, der eine Igelpassage durchgemacht hatte, ergab es sich, daß wider Erwarten mit jeder weiteren Rattenpassage die Virulenz der Trypanosomen abnahm.

1) Lombroso, Trattato della pellagra. Torino 1892. p. 52—54.

Ratte 1 starb nach 14 Tagen

" 2 " " 34 "

" 3 " " 44 "

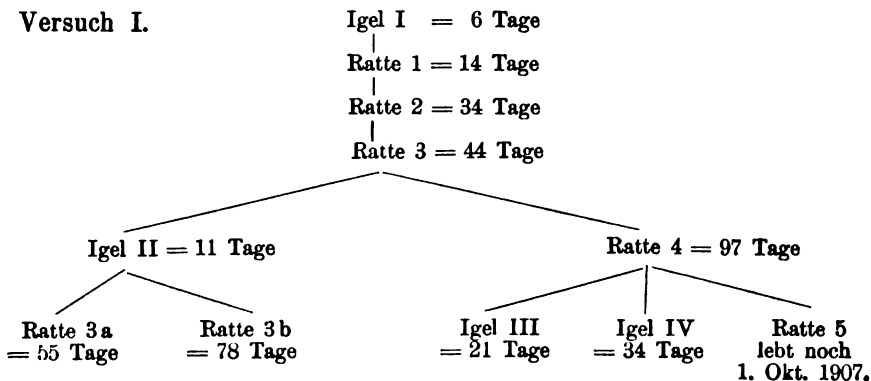
" 4 " " 97 "

" 5 lebt noch 118 Tage; die ersten Trypanosomen traten bei ihr nach 64 Tagen auf, verschwanden aber bald wieder.

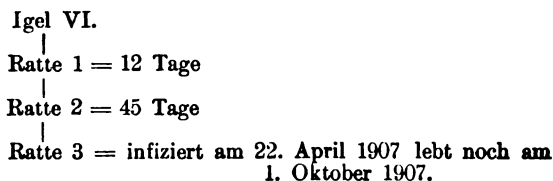
Bei Ratte 4 wurden häufig Blutuntersuchungen gemacht. Die ersten Trypanosomen traten nach 23 Tagen auf und verschwanden dann wieder. Nach weiteren 15 Tagen zeigten sich wieder welche, die nach 4 Tagen wieder verschwanden. In den darauf folgenden 5 Wochen gelang es nie, im Blutausschlag Trypanosomen zu finden. Mehrfache Ueberimpfungen auf Ratten blieben während dieser Wochen erfolglos, und doch müssen auch während dieser Zeit Krankheitskeime im Blute dieser Ratte gekreist haben, da sich dasselbe für Igel noch infektiös erwies. Ein am 8. Mai 1907 mit diesem Blute infizierter Igel zeigte schon nach 8 Tagen zahlreiche Trypanosomen. Er erlag der Infektion nach 21 Tagen.

Von Ratte 3 (infiziert am 30. Januar 1907, gestorben am 15. März 1907) wurde am 26. Februar 1907 ein Igel (Igel II) übergeimpft, also von Igel I — durch Ratte 1, 2, 3 — auf Igel II. Der Igel starb nach 11 Tagen. Der Naganastamm war durch diese zweite Igelpassage für Ratten noch avirulenter geworden; zwei am 4. März 1907 von Igel II übergeimpfte Ratten (Ratte 3a und 3b) starben erst nach 55 bzw. 78 Tagen. Bei beiden Ratten traten die Trypanosomen mehrere Male auf, um dann wieder für längere Zeit zu verschwinden.

Das nachstehende Schema gibt eine Uebersicht der zur Ueberimpfung benützten Tiere, die dahinter stehenden Tage geben an, wie lange sie die Infektion überlebt haben.



Versuch II.



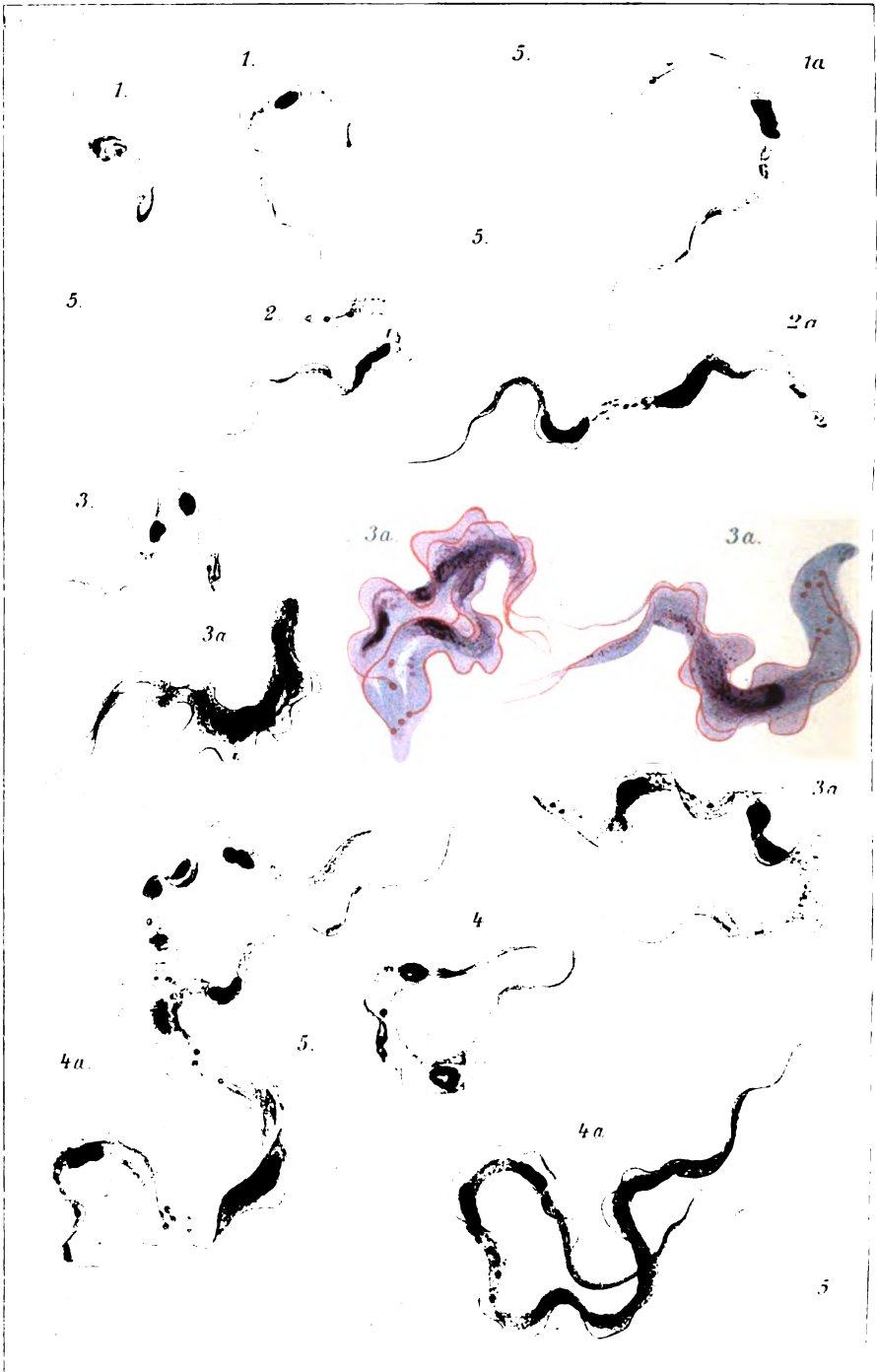
Die Virulenz dieses Trypanosomenstammes nimmt nicht nur für Ratten, sondern auch für Igel stetig ab. Igel I wird die Infektion nur 6 Tage überlebt haben, nach zwei Kontrolligeln zu schließen, die mit frischen Nagana-Trypanosomen infiziert wurden, und die nach 4, bzw.

6 Tagen daran zu Grunde gingen. Igel II, der von Ratte 3 übergeimpft worden war, starb nach 11 Tagen; Igel III, der von Ratte 4 (am 8. Mai 1907) übergeimpft wurde, starb nach 21 Tagen, und Igel IV, der 5 Wochen später (14. Juni 1907) mit dem Blute der gleichen Ratte infiziert wurde, und der schon nach 4 Tagen zahlreiche Trypanosomen im Blutausstrich aufwies, wurde nach 34 Tagen getötet. Beim Igel verschwinden die Trypanosomen, wenn sie einmal aufgetreten sind, nicht wieder. Es finden sich immer nur verhältnismäßig wenig Teilungsformen unter ihnen. Im Igel sind die Trypanosomen größer als die gewöhnlichen Nagana-Trypanosomen (Fig. 1 und 1a); der Kern färbt sich dunkler als normalerweise. Impfen wir vom Igel auf die Ratte über, so sehen die Trypanosomen im Rattenblute zunächst normal aus; sie werden aber mit der Zeit größer und denen des Igels ähnlicher.

Im Igel scheinen wir ein Tier gefunden zu haben, daß gegen Trypanosomen außerordentlich empfindlich ist. Naganastämme, die wir erloschen glaubten, ließen ihr Fortbestehen durch erneute Igelpassage noch nachweisen. So gelang es von einer Ratte, die von Ratte 3b am 22. April 1907 übergeimpft worden war, in deren Blut sich nie Trypanosomen nachweisen ließen, drei Monate später (20. Juli 1907) einen Igel zu infizieren. Nach 4 Tagen traten bei ihm die ersten Trypanosomen auf. Der Igel (Igel XI) starb nach 28 Tagen. Vielleicht könnten Igel bei ihrer großen Empfänglichkeit für Trypanosomeninfektion dazu dienen, um festzustellen, ob ein Tier von Trypanosomen ganz geheilt ist, oder ob sein Blut noch Keime enthält. Wie sich Trypanosomenstämme verhalten, die immer nur von Igel auf Igel weitergezüchtet werden, ließ sich noch nicht feststellen, da es an Igeln fehlte. Diese Versuche sind jetzt im Gange.

Bei einer Ratte (Ratte 4), welche die Infektion 97 Tage überlebte, fanden sich in den letzten Tagen vor dem Tode ganz eigenartige Formen. Die beigegebenen Zeichnungen geben Trypanosomen aus einem Blutausstrich von Ratte 4 am 95. Krankheitstage wieder. Das zu dem Ausstrich benützte Blut hatte nicht gestanden, sondern war frisch der Ohrvene entnommen. Es finden sich darin in überwiegender Zahl Formen, bei denen man deutlich an einem Exemplar 4 bis 8 Kerne, 8, 12, ja bis 16 Geißelwurzeln und ein ganzes Gewirr sich abspaltender Geißeln erkennen kann. Die Geißeln sind so gerichtet, daß das Trypanosoma an beiden Enden in Geißeln ausläuft, wie man es ähnlich bei normalen Konjugationsformen beobachtet. Die Geißeln und die Geißelwurzeln färben sich mit Giemsa leuchtend rot, während die Kerne und die im Plasma verteilten Chromatinkörnchen einen blauvioletten Farbton annehmen. Es handelt sich dabei nicht etwa um Agglutinationserscheinungen, bei der die Trypanosomen in sternförmigen Haufen so angeordnet liegen, daß die Geißeln nach der Peripherie gerichtet sind. Ob es sich hier um vollständige atypische Teilungsvorgänge, bei der es nicht mehr zu Abspaltung des einzelnen Individuums kommt, oder um atypische Konjugationsformen handelt, wage ich nicht zu entscheiden.

Es lag der Gedanke nahe, mit einem derartig abgeschwächten Nagana-Trypanosomenstamme Immunisierungsversuche vorzunehmen. Dieselben fielen negativ aus. Ratten, die schon 6 Wochen mit solchen abgeschwächten Trypanosomen behandelt waren, erlagen einer Neuinfektion mit frischen Nagana-Trypanosomen wie die Kontrolltiere. Es sind weitere Immunisierungsversuche im Gange, deren Verlauf noch nicht abgeschlossen ist.



Während sonst Meerschweinchen für Infektion mit Trypanosomen empfänglich sind, scheinen sie gegen Nagana-Trypanosomen, die eine Igelpassage durchgemacht haben, refraktär zu sein. Selbst größere Mengen reinen, stark trypanosomenhaltigen Blutes (1 ccm Igelblut) erzeugte bisher bei ihnen keine Trypanosomiasis. Ebenso fielen bisher Ueberimpfungen mit diesen Trypanosomen, die schon wieder mehrere Rattenpassagen durchgemacht hatten, bei Meerschweinchen stets negativ aus.

Anders verhält es sich mit den Trypanosomen des Mal de Caderas; sie verändern ihre Form nicht und ihre Virulenz wird durch vorangegangene Igelpassage für Meerschweinchen nicht abgeschwächt. Die Virulenz scheint nach den bisherigen Versuchen eher noch erhöht zu werden. Es könnte dieses Verhalten auch vielleicht als Unterscheidungsmerkmal zwischen diesen beiden Trypanosomenstämmen benützt werden.

Die Resultate obiger Versuche, kurz zusammengefaßt, sind:

Igel sind sehr empfindlich gegen Nagana-Trypanosomen.

Im Igel verändern sich die Nagana-Trypanosomen erstens in Bezug auf ihre Form, zweitens in Bezug auf ihre Virulenz für Ratten.

Die abgeschwächte Virulenz läßt sich durch nachfolgende Rattenpassagen nicht wieder erhöhen, sondern sie nimmt stetig ab.

Gegen Nagana-Trypanosomen, die eine Igelpassage durchgemacht haben, scheinen Meerschweinchen refraktär zu sein.

Die Trypanosomen des Mal de Caderas behalten trotz Igelpassage ihre Virulenz für Meerschweinchen.

Immunisierungsversuche mit diesen abgeschwächten Trypanosomen fielen bisher negativ aus.

Erklärung der Abbildungen.

Zu allen Zeichnungen wurde Zeiss Immersion, Apochrom. 2 mm, Okular 18 und der Zeiss'sche Zeichenapparat und Zeichentisch benützt.

Fig. 1. Normal große Nagana-Trypanosomen aus Rattenblut.

Fig. 1a. Nagana-Trypanosomen nach der Igelpassage. (Ratte 4.)

Fig. 2 und 3. Teilungsformen normaler Nagana-Trypanosomen.

Fig. 2a und 3a. Teilungsformen nach der Igelpassage. (Ratte 4.)

Fig. 4. Konjugationsformen normaler Nagana-Trypanosomen.

Fig. 4a. Dementsprechende Formen nach der Igelpassage. (Ratte 4.)

Fig. 5. Rote Blutkörperchen.

Nachdruck verboten.

Bekannte und neue Arten und Genera von Vogeltänien.

Von Dr. O. Fuhrmann, Akademie Neuchâtel.

Mit 43 Figuren.

In den nachfolgenden Zeilen sollen eine Reihe neuer Arten sowie einige nur dem Namen nach bekannte oder ungenügend beschriebene Species kurz charakterisiert werden. Das Material ist, wie bei jeder Artbeschreibung angegeben, verschiedenen Ursprungs, es stammt hauptsächlich aus dem Museum für Naturkunde in Berlin sowie aus den Sammlungen von Prof. Parona (Genua) und Dr. Lutz (S. Paulo), welchen ich hier meinen besten Dank ausspreche für die Ueberlassung der interessanten Materialien.

Dilepis limosa n. sp.

Fig. 1.

Wirt: *Limosa limosa* (Linn.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Zentral- und Nordeuropa.

Fundort: El Tor (Aegypten); Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2388, 2389, 2390.

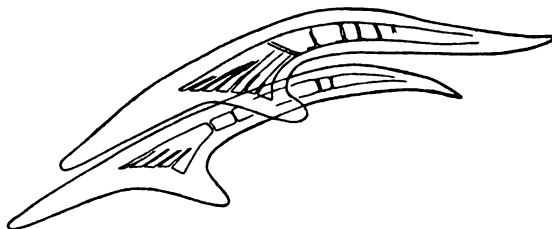


Fig. 1. Haken von *Dilepis limosa* n. sp.

Diese typische Art mißt 3 cm bei 4,5 mm Breite. Der Skolex trägt 20 sehr große Haken in doppelter Reihe angeordnet. Die kleineren Haken messen 0,099 mm, die größeren 0,11 mm. Der Hakenteil ist bei beiden sehr lang, während der Basalteil relativ kurz ist. Die Saugnäpfe haben einen Durchmesser von 0,19 mm, der Skolex einen solchen von 0,45 mm. Hinter den Saugnäpfen zeigt der Skolex überall eine kleine Anschwellung, die aber wohl nur die Folge stärkerer Kontraktion ist. Die Anatomie ist die für *Dilepis* typische.

Die Längswassergefäße liegen weit vom Rande nach innen verlegt, in einer Proglottis von 3,4 mm Breite sind sie 0,5 mm vom Rande entfernt. Der Cirrusbeutel ist schlauchförmig und 0,79 mm lang, der Cirrus nimmt die ganze Länge der Penistasche ein, in ihr geradlinig verlaufend; er ist dicht und fein bedornt. Die zahlreichen Hoden liegen am Hinterrand der Proglottis.

Die weiblichen Genitaldrüsen liegen den einseitig gelegenen Genitalpori leicht genähert. Sie sind wegen der Kürze der Glieder sehr breit. Die Vagina ist starkwandig und verläuft dem Cirrusbeutel parallel; in

der Nähe der Mitte des Keimstockes bildet sie ein relativ kleines eiförmiges Receptaculum seminis.

Die großen Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,044 mm.

Choanotaenia megacantha (Rud.).

Wirt: *Caprimulgus* spec.

Fundort: Brasilien; Museum f. Naturkunde Berlin, No. 2061.

Dieser Cestode zeichnet sich aus durch seine sehr großen Haken, welche die größten bei den Tänien beobachteten sind. Krabbe gibt sie als 0,21 mm lang an, ich habe sie 0,18 mm lang gefunden. Außer den Haken ist von diesem Cestoden nichts bekannt, so daß es angezeigt ist, über diese Art einige Angaben zu machen nach den Fragmenten, welche im Museum von Berlin sich finden und welche das Originalmaterial Rudolphis darstellen. Der Skolex dieses Cestoden mißt 0,57 mm und der Kopf des die großen Haken tragenden Rostellums hat nur 0,228 mm im Durchmesser.

Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd, sie liegen ganz nahe dem Vorderrande der fast quadratischen Glieder. Die breitesten Proglottiden sind 1,2 mm breit und 0,7–0,8 mm lang. Der Cirrusbeutel reicht bis fast in die Mitte der Glieder, die Hoden liegen, ca. 70 an der Zahl, hinter den weiblichen Genitalien. Der Durchmesser derselben ist ca. 0,057 mm groß. Die weiblichen Genitalien zeigen nichts Besonderes. Das Receptaculum seminis ist fast so groß wie der Cirrusbeutel. Reife Glieder mit Oncosphären waren keine vorhanden.

Anomotaenia acollum n. sp. u. *Anomotaenia mutabilis* (Rud.).

Fig. 2–4.

Wirt: *Crotophaga ani* Lin.

Geographische Verbreitung des Wirtes: Nord-, Zentral- und Südamerika.

Fundort: S. Paulo (Brasilien).



Fig. 2.



Fig. 3.

Fig. 2. Haken von *Anomotaenia acollum* n. sp.

Fig. 3. Haken von *Anomotaenia mutabilis* (Rud.).

Fig. 4. Proglottis von *Anomotaenia mutabilis* (Rud.). K Keimstock, D Dotterstock, Rs Receptaculum seminis, H Hoden.

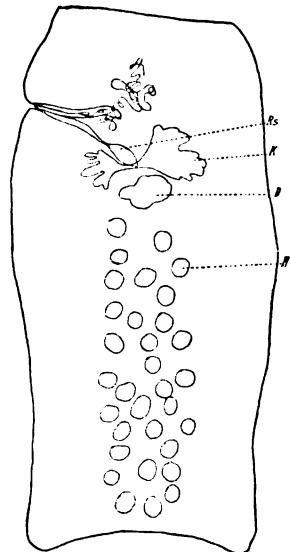


Fig. 4.

Außer den von Dr. Lutz gesammelten Materialien konnte ich noch die Typen Rudolphis von *A. mutabilis* untersuchen und will zunächst von dieser Art eine kurze Beschreibung geben.

Anomotaenia mutabilis (Rud.) besitzt eine Länge von mindestens 5 cm bei einer Breite von 1,5 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,16 mm, die Saugnäpfe einen

solchen von 0,06 mm, der Kopf des Haken tragenden Rostellums mißt 0,048 mm. Das Rostellum ist bewaffnet mit einem doppelten Kranz von ca. 34 Haken, deren Länge 0,0198 mm beträgt. Die Haken beider Kränze sind gleich. Die Strobila besteht aus Gliedern, die nach hinten langsam an Breite, aber rasch an Länge zunehmen, so daß die letzten Glieder bedeutend länger sind als breit. Das abgebildete reife Glied zeigt folgende Maße: Länge 1,5 mm, Breite 0,75 mm. Die Genitalpori sind unregelmäßig abwechselnd. Der Cirrusbeutel ist 0,2 mm lang, das Vas deferens stark verschlungen. Die hinter den weiblichen Genitalien liegenden Hoden sind in der Zahl von 35 in einfacher Lage angeordnet und messen 0,05—0,06 mm. Die Vagina erweitert sich in der Nähe des Keimstockes zu einer Vesicula seminalis. Der gelappte Keimstock ist 0,3 mm breit und seine beiden Flügel asymmetrisch; der Dotterstock ist 0,14 mm breit. Keine reifen Oncosphären.

Anomotaenia acollum n. sp. ist etwa 4 cm lang und 1 mm breit. Der bedeutend größere Skolex mißt 0,3 mm im Durchmesser, die Saugnäpfe haben 0,14 mm und der Kopf des Rostellums 0,14 mm. Die 40 Haken, die in doppelter Krone angeordnet sind, messen 0,05 und 0,046 mm. Die Gliederung der Strobila beginnt sofort hinter dem Skolex. Die Anatomie ist dieselbe wie bei obiger Tanie. Ein Glied von derselben Entwicklungsstufe wie das für obige Tanie abgebildete mißt bei *A. acollum* 0,8 mm in der Länge, die Breite beträgt 0,66 mm. Die Hoden sind zahlreicher und dichtgedrängt, sie sind ebenfalls größer und messen 0,068—0,08 mm im Durchmesser.

Anomotaenia hirundina n. sp.

Fig. 5—6.

Wirt: *Clivicola riparia* (Linn.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Nördliche Hemisphäre.

Fundort: Europa.

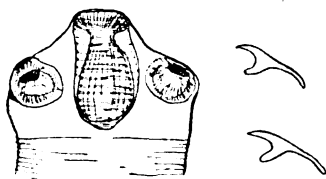


Fig. 5.

Fig. 6.

Fig. 5. Skolex von *Anomotaenia hirundina* n. sp.

Fig. 6. Haken von *Anomotaenia hirundina* n. sp.

Dieser kleine Cestode hat nur eine Länge von 1 cm bei einer Breite von 1 mm. Der Skolex besitzt einen Durchmesser von 0,24 mm und trägt 4 kleine, nur 0,07 mm im Durchmesser messende Saugnäpfe und ein mächtiges bewaffnetes Rostellum mit doppeltem Muskelsack. Die doppelte Hakenkrone besteht aus 54—60 0,0198 mm langen Haken. Sie haben einige Ähnlichkeit mit den Haken von *T. parvirostris* aus derselben Vogelgruppe, doch sind sie bei diesem Cestoden in einfachem Kranze angeordnet, kleiner und nur halb so zahlreich wie bei obiger Tanie.

Die Segmentation der Strobila beginnt direkt hinter dem Skolex. Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd. Der Cirrusbeutel ist 0,1 mm lang, die zahlreichen Windungen des Vas deferens gehen bis in die Mitte des Gliedes, von wo es sich an die zahlreichen, am Hinterrande gelegenen Hoden verzweigt. Die Hoden haben einen Durchmesser von 0,06 mm. Ueber die weiblichen Genitalorgane ist nichts Besonderes zu bemerken. Der Uterus ist noch nicht von reifen Oncosphären erfüllt.

Anomotaenia brasiliensis n. sp.

Fig. 7.

Wirt: *Trogon surucura* Vieill.

Geographische Verbreitung des Wirtes: Uruguay, Paraguay.

Fundort: S. Paulo (Brasilien).

Diese neue Art des Genus *Anomotaenia* verdanke ich Herrn Dr. Lutz aus S. Paulo. Sie ist 5 cm lang und 1 mm breit. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,45 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,17 mm und der Kopf des Rostellums mißt 0,1 mm. Er trägt 20–22 Haken in doppelter Reihe angeordnet; diese Haken messen 0,052 und 0,056 mm. In der Anatomie gleicht diese Tänie sehr der *A. mutabilis* (s. Fig. 3). Der Cirrusbeutel ist 0,18 mm lang, die Hoden, 25 an der Zahl, haben einen Durchmesser von 0,06 mm. Ein reifes Glied, wie das von *A. mutabilis* abgebildete, mißt 0,8 mm in der Länge und 0,57 mm in der Breite. Uterus noch nicht entwickelt.

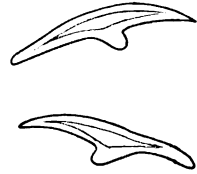
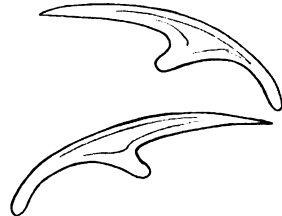
Fig. 7. Haken von *Anomotaenia brasiliensis* n. sp.*Anomotaenia macracanthoides* n. sp.

Fig. 8.

Wirt: *Vanellus* spec.

Fundort: Aegypten.

Wir haben diese Art *A. macracanthoides* genannt, weil sie, was die bedeutende Größe und die Form der Haken anbetrifft, eine gewisse Ähnlichkeit hat mit der von uns in einer südamerikanischen *Vanellus*-Art gefundenen *A. macracantha* Fuhrmann. Das junge Exemplar dieser Tänie maß 17 mm bei einer Breite von 1 mm. Der Skolex ist bewaffnet mit 30 in 2 Reihen angeordneten Haken, welche in ihrer Größe variieren zwischen 0,11 und 0,145 mm, und zwar hat fast jeder Haken eine etwas andere Länge (0,145, 0,141, 0,134, 0,13, 0,125, 0,114, 0,11); auch das Verhältnis von Hakenteil und Basis des Hakens scheint bei keinem ganz konstant zu sein. Das Rostellum, welches diese Haken trägt, hat einen Durchmesser von 0,22 mm. Der Skolex mißt 0,68 mm im Durchmesser, die Saugnäpfe aber nur 0,2 mm. Die Geschlechtsöffnungen scheinen stellenweise fast einseitig zu sein; auf 18 links ausmündende Genitalpori folgt ein solcher rechts, dann 3 links und einer rechts, dann 2 links und 2 rechts etc. Die Strobila ist stark mazeriert, doch sieht man, daß die Anatomie die für die Anomotänien typische ist. Ein Uterus ist noch nicht entwickelt.

Fig. 8. Haken von *Anomotaenia macracanthoides* n. sp.

Amoebotaenia brevicollis n. sp.

Fig. 9—10.

Wirt: *Charadrius nubicus*¹⁾.

Fundort: Dongola (Aegypten); Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2339 u. 2405.



Fig. 9.

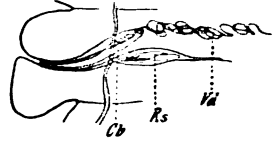
Fig. 9. Haken von *Amoebotaenia brevicollis* n. sp.Fig. 10. Teil eines Flächenschnittes von *Amoebotaenia brevicollis* n. sp. Cb Cirrusbeutel, Vd Vas deferens, Rs Receptaculum seminis.

Fig. 10.

Diese aus nur 24 Proglottiden bestehende sehr kleine Tänie hat 16 Haken am Rostellum, welche nach ihrer Form sehr ähnlich sind den Haken von *T. laevigata*, aber bedeutend kleiner als diese. Die Länge der Haken ist 0,059—0,061 mm.

Die Geschlechtsorgane münden regelmäßig abwechselnd links und rechts aus. Sofort hinter dem Skolex noch im Bereich des Muskelsackes des Rostellums sieht man die ersten Anlagen der Geschlechtsdrüsen, die sich rasch entwickeln.

Die Genitalkloake ist tief, kanalartig und muskulös. Der Cirrusbeutel ist schlauchförmig, 0,24 mm lang und enthält ein stark gewundenes Vas deferens und einen mit langen, feinen Borsten bewaffneten Cirrus. Das Vas deferens ist bis in die Mitte des Gliedes stark gewunden. 12—15 große, 0,06 mm messende Hoden liegen am Hinterrande des Gliedes zwischen den Längswassergefäßen. Die Vagina bildet sofort innerhalb der Wassergefäße ein 0,08 mm langes, spindelförmiges Receptaculum seminis. Die weiblichen Drüsen zeigen nichts Besonderes. Die großen Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,034 mm, die erste Hülle mißt 0,05 mm, die zweite 0,075 mm.

Amoebotaenia vanelli n. sp.

Fig. 11.

Wirt: *Vanellus dongolanus*²⁾.

Fundort: Dongola (Aegypten); Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2358.

Fig. 11. Haken von *Amoebotaenia vanelli* n. sp.

Diese ebenfalls kleine, 7 mm lange und 1 mm breite Tänie besteht aus ca. 25 Proglottiden. Der Durchmesser des Skolex beträgt 0,16 mm, während die Saugnäpfe genau die Hälfte dieses Diameters besitzen. Der Skolex ist bewaffnet von einem einfachen Kranze von ca. 16 Haken, welche 0,046 bis 0,051 mm lang sind.

Die Genitalporen sind regelmäßig abwechselnd disponiert.

Am Hinterrande der Proglottis liegen 18—20

1) Dieser Artnamen stammt von Hemprich und Ehrenberg, den Sammlern dieses Cestoden.

2) Dieser Artnamen stammt von Hemprich und Ehrenberg, den Sammlern dieses Cestoden.

Hoden von 0,07—0,09 mm Durchmesser. Der Cirrusbeutel ist 0,2 mm lang, das Vas deferens stark gewunden. Die weiblichen Geschlechtsdrüsen sind im Vorderteil der Proglottis gelegen, sie sind klein, ebenso das spindelförmige Receptaculum seminis.

Fuhrmannia brasiliensis Parona.

Fig. 12.

Wirt: *Picus spec.*

Fundort: S. Paulo (Brasilien).

Dieser Cestode wurde von Parona¹⁾ bereits kurz beschrieben, doch will ich hier nochmals eine kurze ergänzende Beschreibung geben und auch eine Abbildung der für die Bestimmung so wichtigen Haken beifügen.



Fig. 12. Haken von *Fuhrmannia brasiliensis* Parona.

Dieser sehr kleine Cestode besteht in reifem Zustande nur aus etwa 16 Proglottiden, seine Länge erreicht kaum 3 mm, seine größte Breite ist 0,50 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,39 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,15 mm. Das Rostellum trägt einen doppelten Kranz fast gleichgeformter Haken. Jede Krone zählt 10 Haken, von welchen die größeren 0,043, die kleineren 0,039 mm messen.

Die Genitalpori sind regelmäßig abwechselnd. Die männlichen Genitalien bestehen aus 12—14 am Hinterrande gelegener Hoden. Der in dem kleinen birnförmigen Cirrusbeutel gelegene Cirrus ist an seiner Basis von einem Kranz langer, feiner Borsten umgeben, welche in der Genitalkloake einen kleinen, sich dunkel färbenden Kegel bilden. Die letzte Proglottis ist ganz erfüllt vom sackförmigen Uterus und mißt 0,7 mm in der Länge und 0,5 mm in der Breite. Die Oncosphäre hat einen Durchmesser von 0,027—0,03 mm, die äußere Hülle einen solchen von 0,043 mm. Die äußerste Schale scheint noch zu fehlen.

Lateriporus teres (Krabbe).

Fig. 13—14.

Wirt: *Somateria mollellima* (Linn).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Arktische Region.

Fundort: Grönland.

Dieser sehr typische Cestode wurde von Krabbe²⁾ zuerst gefunden und kurz beschrieben. Herr Prof. Krabbe hatte die Güte, mir das Originalmaterial dieser Tänie zur Verfügung zu stellen, nach welchem auch die nachfolgende kurze Beschreibung abgefaßt ist.

Was uns bereits äußerlich an diesem Cestoden auffällt, ist seine fast drehrunde Gestalt. Das Originalmaterial scheint stark kontrahiert zu sein und sind die zahlreichen Exemplare desselben fast alle spiralig aufgerollt, und sehen so bei oberflächlicher Besichtigung kurzen, dicken Nematoden oder gewissen Echinorrhynchen sehr ähnlich.

Die Strobilen der mir zur Verfügung stehenden Exemplare sind ca. 6 cm lang und 1,5—2 mm breit, doch sind in den letzten Gliedern die Oncosphären noch nicht ganz entwickelt, so daß sie wohl noch bedeutend länger werden. Krabbe gibt als Länge 420 mm und als Breite 3 mm an; diese Maße beziehen sich wohl auf stark gestreckte

1) Parona, C., Di alcuni cestodi brasiliani, raccolti dal Dott. A. Lutz. (Boll. dei Musei di zoologia e anatomia comparata della R. Università di Genova. 1901. No. 102.)

2) Krabbe, H., Bidrag till kundskab om Fuglenes Bændelorme. 1869.

Exemplare. Bei meinen Exemplaren maßen die Glieder bei 1,9 mm Breite nur 0,15 mm in der Länge. Auf den fast kreisrunden Querschnitten sehen wir die Rindenschicht des Parenchyms sehr stark entwickelt, sie mißt in einer reifen Proglottis 0,45 mm, während das Markparenchym nur eine Höhe von 0,6 mm hat. Mark- und Rindenparenchym sind voneinander getrennt durch eine sehr starke Transversalmuskulatur, welcher nach außen eine nur undeutlich in doppelter Lage angeordnete Längsmuskelbündelzone angelagert ist. Die von Muskeln freie äußere Parenchymschicht mißt 0,34 mm. In der schmalen Parenchymzone

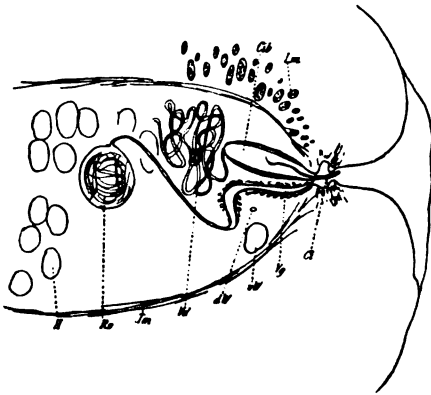


Fig. 13.

Fig. 13. Teil eines Querschnittes von *Lateriporus teres* (Krabbe). *vW* ventrales Wassergefäß, *dW* dorsales Wassergefäß, *Tm* Transversalmuskulatur, *Lm* Längsmuskulatur, *Ci* Cirrus, *Cb* Cirrusbeutel, *Vd* Vas deferens, *H* Hoden, *Vg* Vagina, *Rs* Receptaculum seminis.

Fig. 14. Markparenchymteil eines Querschnittes aus der Region der weiblichen Geschlechtsdrüsen von *Lateriporus teres* (Krabbe). *K* Keimstock, *D* Dotterstock.

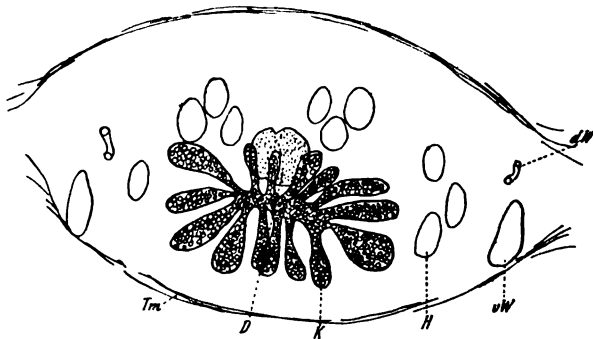


Fig. 14.

zwischen je 2 Proglottiden sehen wir auf dem Querschnitt sehr zahlreiche Muskelfasern in allen sich kreuzenden Richtungen verlaufen. Die letzten Proglottiden, deren Markparenchym vom Uterus ausgefüllt ist, zeigen in ihrem Parenchym in sehr großer Zahl 0,01—0,016 mm große Kalkkörperchen. Bei der bedeutenden Kürze der Glieder und der großen Dicke der Strobila sind die einseitig ausmündenden Geschlechtsorgane natürlich hauptsächlich dorsoventral entwickelt. Die am Hinterrande der Proglottis gelegenen Hoden liegen, ca. 30 an der Zahl, in dorsoventraler Richtung stellenweise 4—5 übereinander, während man auf Flächenschnitten nur eine einfache Querreihe solcher findet. Der Querdurchmesser der Hoden ist 0,05 mm, der dorsoventrale Durchmesser dagegen 0,1 mm. Das Vas deferens ist in der Nähe des Cirrus-

beutels sehr stark geschlungen und sind die letzten Schlingen vor dem Eintreten in die Penistasche mit mehrfacher Lage von Drüsenzellen umgeben. Der Cirrusbeutel geht nur wenig über die Längsgefäße des Exkretionssystems hinaus. Er enthält einen unbewaffneten Cirrus, der sehr lang und bei einzelnen Proglottiden 0,5 mm weit ausgestülpt ist. Die Genitalkloake ist sehr muskulös. Es existiert weder *Vesicula seminalis externa* noch *interna*.

Wie der Cirrusbeutel, so geht auch die Vagina über die beiden Exkretionsstämme, sie ist von der Genitalkloake bis innerhalb der Längsgefäße des Exkretionssystems sehr dickwandig und muskulös. Innerhalb der Exkretionsstämme zieht sie ventral, um dann plötzlich als feiner Kanal dorsalwärts bis in die Mitte des Gliedes zu verlaufen, wo sie sich zu einem sphärischen, 0,11 mm im Durchmesser messenden *Receptaculum seminis* erweitert. Das Ovarium ist nicht zweiflügelig und äußerst tief gelappt, und zwar sind die schlanken keulenförmigen Keimstocktuben nicht nur dorsal, sondern ebenso zahlreich und ebenso lang auf der Ventralseite des quer verlaufenden, sie vereinigenden Eischlauches. Die Eier sind deutlich polygonal. In der Mitte des Keimstockes entspringt mit einem muskulösen Trichter der Ovidukt. Der Dotterstock ist ziemlich dorsal gelegen, die Schalendrüse noch dorsaler, ist groß. Der Uterus erfüllt das ganze Markparenchym, er enthielt aber keine reifen *Oncosphären*.

Lateriporus propeteres n. sp.

Fig. 15—19.

Wirt: *Nettium brasiliense* (Gm.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Ganz Südamerika.

Fundort: Brasilien; Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2047.

Dieser Cestode ist interessant, weil er fast dieselbe Hakenform und Größe zeigt wie die eben beschriebene *L. teres* Krabbe. Wie bei

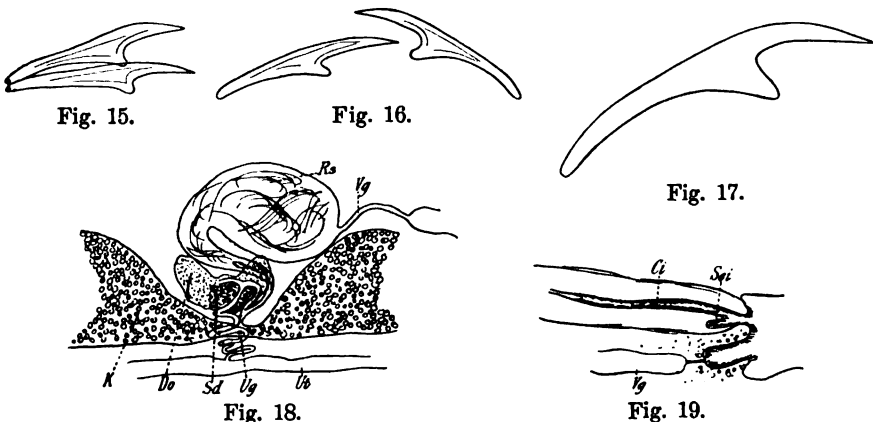


Fig. 15. Haken von *Lateriporus teres* (Krabbe) nach Krabbe.

Fig. 16. Haken von *Lateriporus propeteres* n. sp.

Fig. 17. Haken von *Hymenolepis teresoides* Fuhrmann.

Fig. 18. Mediane Partie eines Querschnittes durch *Lateriporus propeteres* n. sp. K Keimstock, D Dotterstock, Sd Schalendrüse, Ug Uteringang, Ut Uterus, Rs Receptaculum seminis, Vg Vagina.

Fig. 19. Ausmündung von Cirrusbeutel und Vagina von *Lateriporus propeteres*. Ci bestachelte Cirrus mit Saccus accessorius internus Sci, Vg Vagina

L. teres, finden wir 16 Haken, welche 0,12 mm lang sind. Wir hätten also in Enten parasitierend 3 Arten von Tänien vom Hakentypus der *T. teres* Krabbe.

1) *Lateriporus teres* Krabbe mit 12—16 Haken, die 0,15 bis 0,17 mm lang sind (Fig. 15).

2) *Lateriporus propeteres* Fuhrmann mit 16 Haken, die 0,12 mm lang sind (Fig. 16).

3) *Hymenolepis teresoides* Fuhrmann mit 15 Haken, die 0,09 mm lang sind (Fig. 17).

Die Hakenform ist bei allen ungefähr dieselbe, die Anatomie aber deutlich verschieden.

Die Länge dieses Cestoden beträgt wohl mehrere Centimeter bei einer Breite von 1,8 mm. Es waren keine vollständigen und ganz reifen Exemplare vorhanden.

Die Dicke der Strobila ist nicht bedeutend. Die Muskulatur zeigt an den Längsbündeln eine deutliche Anordnung in 2 Lagen, von welchen die äußeren nur wenig zahlreicher als die inneren, aber dabei nur aus ca. 10 Fasern, während die inneren aus ca. 30 Fasern zusammengesetzt sind.

Deutlich verschieden von *L. teres* ist die Anatomie. Die Genitalpori sind unilateral. Der Cirrusbeutel ist keulenförmig, 0,3 mm lang. Der Cirrus ist fein bedornt und besitzt an seiner Basis einen kleinen Sacculus accessorius. Am inneren Ende des Cirrusbeutels liegt eine große Vesicula seminalis interna, die bei ihrem Austritt aus der Penistasche von einem deutlichen Sphinkter verschlossen wird. Der Cirrusbeutel hat einen starken Retraktor. Gleich außerhalb desselben erweitert sich das Vas deferens zu einer Vesicula seminalis externa, um dann als enger Samenkanal in wenigen Windungen zu den Hoden zu verlaufen. Die Hoden, nur ca. 12 an der Zahl, liegen seitlich. In einer 0,068 mm langen und 1,8 mm breiten Proglottis sind die Hoden im Längsdurchmesser so groß wie die Proglottis lang, im Querdurchmesser messen sie 0,12 und in dorsoventraler Richtung 0,1 mm.

Die Vagina beginnt mit einem Sacculus, der gleich bestachelt ist wie der Cirrus und sein Sacculus accessorius. Am Grunde dieses bestachelten Säckchens öffnet sich ein enger Kanal, die eigentliche Vagina, welche sich sofort erweitert und erst in der Nähe des eigentlichen Receptaculum seminis sich wieder verengt. So wird wohl auch dieser Teil der Vagina als schlauchförmiges Receptaculum seminis funktionieren. Der eigentliche Samenbehälter liegt median, ist eigentümlich gebogen und mündet in den kurzen Ovidukt. Der Keimstock ist nicht gelappt, zweiflügelig und ca. 0,8 mm breit. Der Dotterstock ist hinter dem Ovarium und etwas dorsaler gelegen als dieses, er ist leicht gelappt und 0,16 mm breit und 0,14 mm hoch. Die Schalendrüse ist sehr groß. Der Uteringang ist stark gewunden und sehr lang, er zieht von der Dorsalseite ventralwärts nach dem als quer verlaufender Schlauch ventral unter dem Keimstock gelegenen Uterus. In reifen Gliedern erfüllt er das ganze Markparenchym. Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,023 mm; die Hüllen sind noch nicht vollständig entwickelt.

Cyclorchida omalancristrota (Wedl.).

Fig. 20—23.

Wirt: *Platalea leucorodia* (Linn.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Zentral- und Südeuropa, Zentralasien, Japan, Indien, Ostafrika.

Fundort: Ägypten.

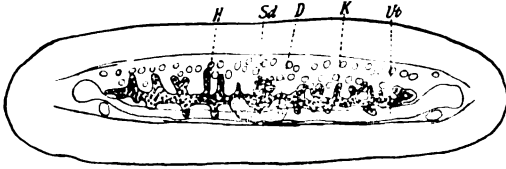


Fig. 20.

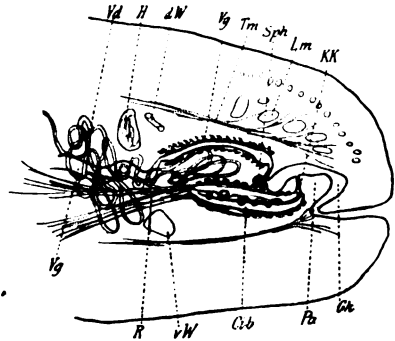


Fig. 21.

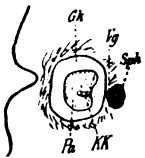


Fig. 22.



Fig. 23.

Fig. 20. Querschnitt durch eine Proglottis von *Cyclorchida omalancristrota* (Wedl.). Figurenbezeichnung wie in Fig. 18.

Fig. 21. Seitlicher Teil eines Querschnittes von *C. omalancristrota* (Wedl.). Figurenbezeichnung wie in Fig. 13 und 18. *Gk* Genitalkloake, *Pa* Papille, *Kk* Kloakenkanal, *SpA* muskulöse Masse (Sphincter), *R* Retraktor des Cirrusbeutels.

Fig. 22. Flächenschnitt durch die Genitalkloake von *C. omalancristrota* (Wedl.). Bezeichnungen wie in Fig. 21.

Fig. 23. Reife Proglottis von *C. omalancristrota* (Wedl.).

Dieser Cestode zeichnet sich zunächst aus durch die eigentümliche Form der Haken, welche, 20 an der Zahl, das Rostellum bewaffnen. Sie sind in 2 Reihen angeordnet und von sehr verschiedener Größe. Die großen Haken messen 0,17 mm, die kleinen, der zweiten Reihe angehörend, haben nur eine Länge von 0,060 mm. Die Form der Haken wurde von Krabbe¹⁾ Taf. V, Fig. 96 trefflich dargestellt.

Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,62 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,17 mm. Die Länge der Strobila beträgt 25 cm, die größte Breite 4 mm. Die Muskulatur der Strobila besteht aus einer inneren Transversalmuskelzone und 2 Längsmuskellagen, von welchen die inneren Bündel bedeutend größer als die äußeren, diese bedeutend zahlreicher als die inneren sind.

Die männlichen Geschlechtsdrüsen zeigen eine charakteristische Disposition, welche ein Hauptcharakter des für diese Art zu begründenden neuen Genus ist. In den meisten Täniengenera mit zahlreichen Hoden finden wir dieselben ganz hinter den weiblichen Genitaldrüsen gelegen, in einigen Fällen treffen wir sie seitlich links und rechts von weiblichen Geschlechtsdrüsen im Markparenchym angeordnet und in noch selteneren Fällen sehen wir sie vor dem Keimstock und Dotterstock gelegen. Bei *T. omalancristrota* Wedl. bilden sie um die weiblichen Geschlechtsdrüsen einen Kranz. Ihre Zahl ist sehr bedeutend, auf einem Flächen-

1) Krabbe, loc. cit.

schnitte habe ich 90 gezählt und auf einem Querschnitte ca. 45. Hinter und vor den Ovarien finden wir sie in 4—5-facher Lage. Ihr Durchmesser ist 0,01 mm. Die Vasa efferentia vereinigen sich in der Mitte des Gliedes dorsal, von wo das Vas deferens, bevor es zwischen den Längswassergefäßen durchgeht, die ganze Höhe des Markparenchyms einnehmende zahlreiche Schlingen bildet. Das Vas deferens ist von Drüsenzellen umgeben. Auch außerhalb der beiden Wassergefäße macht das Vas deferens noch einige Schlingen, bevor es in den muskulösen, 0,26 mm langen Cirrusbeutel tritt. Dieser ist von deutlichen Myoblasten umhüllt. Das Vas deferens ist in der Penistasche stark geschlungen, während der Cirrus, starkwandig und dicht bestachelt, in gerader Linie die ganze Länge des Beutels durchläuft. Er besitzt einen deutlichen Retraktor, ebenso finden wir, am inneren Ende des Cirrusbeutels sich ansetzend, einen starken Retraktor, der sich im Markparenchym verliert. Der Cirrusbeutel mündet auf einer mächtigen Papille durch einen kurzen engen Kanal in die Genitalkloake.

An der Basis dieser Papille mündet die Vagina; sie verläuft dorsal vom Cirrusbeutel und beginnt mit einem engen Kanal, dem einseitig knopfförmig eine mächtige Muskelmasse anliegt. Wie dieses sphinkterartige Gebilde funktioniert, ist nicht ersichtlich. Innerhalb desselben erweitert sich die Vagina zu einer kleinen Blase und wird dann zu einem sehr starkwandigen, muskulösen und von Zellen dicht umhüllten Kanal, der innerhalb der Wassergefäße dünnwandig und weit wird und sich so leicht gewellt bis zum Ovarium hinzieht, wo er sich noch etwas erweitert. Es wird wohl dieser ganze innerhalb der Exkretionsstämme gelegene Teil der Vagina als Receptaculum funktionieren, besonders aber der erweiterte, dem Keimstock nahe gelegene Teil. Das Ovarium ist stark gelappt und besitzt namentlich dorsal und ventral gerichtete Lappen; ebenfalls gelappt ist der Dotterstock. Der Keimstock nimmt fast die ganze Breite des Markparenchyms ein, während der Dotterstock klein ist. Die Schalendrüse ist ziemlich dorsal gelegen. Der Uteringang ist lang und zieht ventralwärts unter den Keimstock, wo der Uterus in jugendlichem Zustande als querverlaufender, zwischen den Wassergefäßen durchtretender Schlauch entwickelt ist. In reifen Gliedern füllt er die ganze Proglottis aus und finden wir nur noch seitlich und zwischen je 2 Gliedern eine schmale Parenchymzone. Vorn und hinten zeigt die Uteruswandung in das Lumen desselben vorspringende Septen.

Die Oncosphären haben einen Durchmesser von 0,024 mm, die Hamuli embryonales eine Länge von 0,0126 mm.

Die Diagnose dieses neuen Genus lautet: Cestoden mit einem doppelten Kranz von Haken, mit mächtiger Basis und kleinem Hakenteil, bewaffnet. Genitalöffnungen einseitig. Geschlechtsgänge zwischen den Wassergefäßen durchgehend. Der Cirrusbeutel auf einer großen Papille durch einen engen Kanal in die Genitalkloake mündend. Hoden sehr zahlreich, einen Kranz um die weiblichen Geschlechtsdrüsen bildend. Uterus anfangs ganz ventral, seitlich zwischen den Wassergefäßen durch ins Rindenparenchym dringend.

Acanthocirrus macrorostratus n. sp.

Fig. 24—27.

Wirt: *Anthus pratensis* L.

Geographische Verbreitung des Wirtes: Europa und Nordafrika.

Fundort: El Tor (Aegypten); Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 4196.

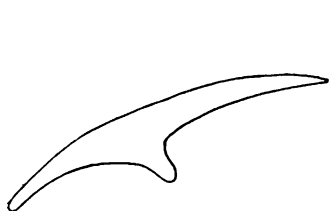


Fig. 24.

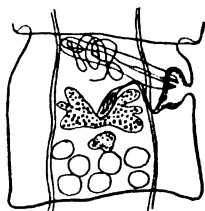


Fig. 25.



Fig. 26.

Fig. 24. Haken von *Acanthocirrus macrorostratus* n. sp.Fig. 25. Proglottis von *A. macrorostratus* n. sp.Fig. 26. Ausmündung der Geschlechtsgänge einer Proglottis von *A. macrorostratus*. Gk Genitalkloake, Cb Cirrusbeutel, Vg Vagina, St Stacheln (von der Seite gesehen), welche an der Austrittsstelle des Cirrus liegen.Fig. 27. Stachel von der Austrittsstelle des Cirrus von *A. macrorostratus*, von vorn gesehen.

Fig. 27.

Dieser kleine Cestode mißt nur ca. 1,5 cm bei einer Breite von 0,3 mm. Der Skolex zeigt ein sehr großes Rostellum, das bei einem Durchmesser des Kopfes von 0,23 mm 0,24 mm lang und 0,09 mm breit ist.

Leider war nur ein Haken erhalten, der 0,075 mm lang ist.

Die Genitalöffnungen sind einseitig.

Die Hoden liegen, 6—8 an der Zahl, am Hinterende der Proglottis, das Vas deferens ist über dem Cirrus stark verschlungen. Der Cirrusbeutel reicht bis an das dem Genitalporus gegenüberliegende Exkretionsgefäß. Der Cirrus ist dicht bedornt. Die Penistasche mündet nicht direkt in die Genitalkloake, sondern in einen in seinem Anfangsteil mit langen, feinen, sich dunkel färbenden Borstenhaaren ausgekleideten Kanal, an dessen Grunde zwei sehr große, 0,057 mm lange Stacheln mit breiter, sich dunkel färbender Basis befestigt sind. Die Basis dieser Haken ist dreieckig und 0,023 mm breit. Der sich ausstülpende Cirrus geht zwischen den Haken durch und kann sich offenbar auch der männliche Kloakenkanal ausstülpfen. Die Genitalkloake ist sehr groß und von sich dunkel färbenden feinen Borstenhaaren ausgekleidet.

Die Vagina beginnt als trichterförmiger, starkwandiger Kanal, der sich in leichtem Bogen zum Keimstock begibt, wo sie sich zu einem kleinen Receptaculum seminis erweitert. Der Keimstock und Dotterstock, vor den Hoden gelegen, sind leicht gelappt. Der sackförmige Uterus enthält 0,024 mm große Oncosphären mit 0,0126 mm langen Hamuli embryonales.

Clerc¹⁾ beschreibt unter dem Namen *Dilepis macropeos* (Wedl.)

1) Clerc, W., Notes sur les cestodes d'oiseaux de l'Oural. II. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLII. 1906. p. 716.)

einen Cestoden, welcher sehr große Analogie zeigt mit der oben beschriebenen Art und welche der Autor vorläufig in das Genus *Dilepis* stellt. Die beiden Arten sind deutlich verschieden, zeigen aber folgende gemeinsame Charaktere: Die Genitalporen sind einseitig, die Geschlechtsgänge gehen zwischen den Wassergefäßen durch, die Zahl der hinter den weiblichen Geschlechtsdrüsen gelegenen Hoden ist gering; der Cirrus besitzt eine mächtige accessorische Bewaffnung, welche aus einem oder zwei Paar an seinem Austritt aus dem Cirrusbeutel gelegener, sehr großer Chitinstacheln besteht. Bei beiden Arten sind dieselben an der Basis stark färbbar, die Spitze dagegen sehr durchsichtig und farblos. Die Diagnose des neu zu begründenden Genus würde also lauten: Tänien mit bewaffnetem Rostellum. Genitalporen einseitig; Geschlechtsgänge zwischen den Wassergefäßen durchgehend. Cirrus mit einem oder zwei Paar an seiner Basis fixierten, in besonderen Taschen liegenden mächtigen Stacheln. Hoden wenig zahlreich. Uterus sackförmig.

Monopylidium passerinum n. sp.

Fig. 28—29.

Wirte: *Passer domesticus* und *Fringilla ruficeps*¹⁾.

Geographische Verbreitung des Wirtes: Europa, Zentralasien, Nordafrika.

Fundort: Europa und Aegypten; Hofmuseum in Wien, Glas No. 124; Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2483; Museum in Stuttgart.



Fig. 28.

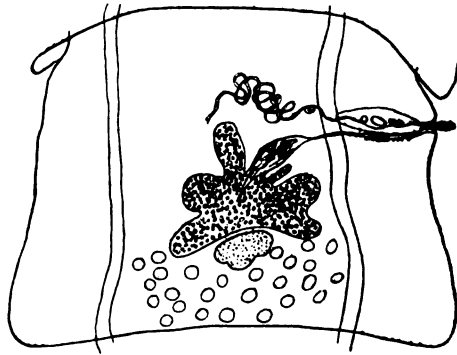


Fig. 29.

Fig. 28. Haken von *Monopylidium passerinum* n. sp.

Fig. 29. Proglottis von *M. passerinum* n. sp.

Dieser kleine Cestode mißt 3 cm bei einer Breite von 0,75 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,16 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,07 mm. Das Rostellum ist bewaffnet mit einer doppelten Krone 0,014—0,016 mm langer Haken.

Die Glieder der Strobila sind vorn kurz, werden nach hinten länger, bis sie am Hinterende bedeutend länger als breit sind.

Glieder mit wohlentwickelten Geschlechtsdrüsen messen 0,068 mm in der Breite und 0,34 mm in der Länge; reife Glieder des Hinterendes 0,45 mm in der Breite und 1,6 mm in der Länge.

1) Dieser Wirtsname konnte nicht aufgefunden werden.

Die Geschlechtsöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd. In die kleine Genitalkloake mündet ein 0,19 mm langer Cirrusbeutel mit sehr fein bedorntem Cirrus; das Vas deferens ist bei seinem Austritt stark verschlungen. Die Hoden, ca. 30 an der Zahl und etwa 0,05 mm im Durchmesser messend, liegen hinter den weiblichen Genitaldrüsen.

Das Ovarium ist gelappt, aber nicht deutlich zweiflügelig, es ist 0,34 mm breit, der hinter ihm gelegene Dotterstock mißt 0,14 mm in der Breite. Die Vagina bildet in der Nähe des Keimstockes ein spindelförmiges Receptaculum seminis. Beim Uebertritt über das Längsgefäß des Wassergefäßsystems wird die Vagina starkwandig. Die befruchteten Eier treten früh in das Parenchym. Die die Oncosphären (0,025 mm, mit 0,014 mm großen Hamuli embryonales) umschließende Membran zeigt an den beiden Polen eine typische Verdickung, die nur bei gefärbten Eiern leicht sichtbar ist. Die beiden Hüllen messen 0,04 und 0,05 mm.

Obige Tanie zeigt eine gewisse Ähnlichkeit mit *T. parvirostris* Krabbe in Form und Größe der Haken, doch zeigen sich bei derselben nach Linstow breite Dornen am Cirrus und fadenförmige Anhänge an den Polen der äußeren Schale.

Monopylidium cayennense n. sp.

Fig. 30–31.

Wirt: *Belonopterus cayennense* (Gm.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Museum von Genua.

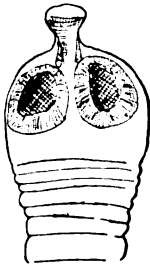


Fig. 30.



Fig. 31.

Fig. 30. Skolex von *Monopylidium cayennense* n. sp.

Fig. 31. Haken von *M. cayennense* n. sp.

Monopylidium cayennense und *M. secundum* stammen aus der Sammlung von Herrn Prof. C. Parona (Genua), der mir dieselben mit anderen südamerikanischen von Dr. Lutz gesammelten Cestoden zur Bestimmung übersandte, wofür ich ihm hier meinen besten Dank ausspreche.

Diese Art hat eine Länge von 8–15 mm, die größte Breite 0,5 mm. Der Skolex ist 0,35 mm breit, die Saugnäpfe messen die Hälfte dieser Breite. Das knopfförmig verdickte Rostellum trägt 22 Haken, in zwei Kränzen angeordnet. Die Haken messen 0,054 mm. Am Scheitel des Skolex um das austretende Rostellum scheinen Drüsenzellen zu liegen (s. Fig.). Die Strobila besteht aus 20–40 Proglottiden, die nach hinten länger werden. Die letzte Proglottis mißt 0,85 mm in der Länge bei einer Breite von 0,5 mm. Am Hinterende der Glieder liegen besonders zahlreich kleine Kalkkörperchen.

Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig alternierend. Genitalgänge gehen zwischen den Wassergefäßen durch. Der Cirrusbeutel ist 0,12 mm

lang, das Vas deferens stark geschlungen. Die Hoden, 18—20 an der Zahl und 0,04 mm im Durchmesser messend, bleiben sehr lange bestehen und findet man noch Reste von ihnen, wenn die Eier bereits ins Parenchym übergetreten sind. Vagina starkwandig mit spindelförmigem Receptaculum seminis. Keimstock und Dotterstock, vor den Hoden gelegen, sind stark gelappt. Die Oncosphären werden einzeln oder zu wenigen vereint vom Parenchym umschlossen. Der Durchmesser der Oncosphären beträgt 0,028 mm.

Monopylidium secundum n. sp.

Fig. 32.

Wirt: *Belonopterus cayennensis* (Gm.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Südamerika.

Fundort: Brasilien; Museum von Genua.



Fig. 32. Haken von *Monopylidium secundum* n. sp.

Dieser Cestode ist 7 mm lang bei einer größten Breite von 0,79 mm. Der Skolex hat einen Durchmesser von 0,3 mm, die Saugnäpfe messen 0,15 mm. Das vorn knopfförmig verdickte Rostellum trägt 30 Haken in doppelter Krone. Diese Haken sind 0,019 mm lang und in beiden Reihen von gleicher Gestalt und Größe. Die Strobila besteht nur aus etwa 35 Gliedern, welche nach hinten immer länger werden und schließlich länger als breit sind.

Auf Querschnitten sehen wir, daß die Subcuticularzellen sehr dicht und regelmäßig, epithelartig angeordnet sind. Das Parenchym ist von Kalkkörperchen erfüllt. Die Muskulatur besteht aus einer Transversal- und 2 Längsmuskellagen. Die inneren Bündel sind nur wenig stärker als die äußeren, aber viel weniger zahlreich.

Die Genitalporen sind alternierend, die Geschlechtsgänge gehen zwischen den Wassergefäßen durch. Der Cirrusbeutel ist 0,14 mm lang, das Vas deferens stark verschlungen. Die ca. 22 Hoden sind hinter den weiblichen Geschlechtsdrüsen gelegen, in doppelter Lage angeordnet und 0,054 mm im Durchmesser messend. Die Vagina ist starkwandig mit spindelförmigem Receptaculum seminis. Das Ovarium ist 0,25 mm breit, der Dotterstock mißt 0,09 mm in der Breite. Die Oncosphären treten ins Parenchym, wo sie meist einzeln von demselben umgeben werden.

Monopylidium macracanthum n. sp.

Fig. 33.

Wirt: *Helodromas ochropus* (Linn.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Alte Welt, im Winter Afrika und Indien.

Fundort: Aegypten; Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2353.

Die reifen Exemplare dieses typischen Vertreters des Genus *Monopylidium* messen 2,5—3 cm bei einer größten Breite von $2\frac{1}{2}$ —3 mm; dieselbe wird aber etwas hinter der Mitte der Strobilalänge erreicht. Die letzten Glieder sind bedeutend länger als breit, während sie sonst, namentlich im Vorderteil, bedeutend breiter als lang sind. So mißt z. B. ein Glied von 2 mm Breite nur 0,20 mm in der Länge. Das Rostellum zeigt einen Durchmesser von 0,72 mm, die Saugnäpfe einen solchen von 0,19 mm. Das mit 0,8 mm langem Muskelsack umhüllte Rostellum trägt

einen doppelten Kranz von 22 sehr großen Haken. Die großen Haken messen 0,148 mm, die kleinen 0,11 mm.

Die Genitalporen sind unregelmäßig alternierend. Die Geschlechtsgänge gehen über den Wassergefäßen durch. Der Cirrusbeutel ist 0,16 mm lang, doch liegt er ganz außerhalb der Längsstämme des Wassergefäßsystems in dasselbe 0,3 mm vom Proglottivenrande entfernt liegt. Das Vas deferens ist in der Penistasche sowohl als außerhalb derselben stark verschlungen. Die am Hinterende gelegenen Hoden sind

sehr zahlreich und finden sich im Proglottidenquerschnitt in mehrfacher Lage angeordnet. Die Vagina zeigt innerhalb des Wassergefäßsystems ein spindelförmiges 0,2 mm langes Receptaculum seminis. Ovarium und Dotterstock sind leicht poralwärts verschoben. Die 0,036 mm im Durchmesser messenden Oncosphären liegen einzeln im Parenchym.

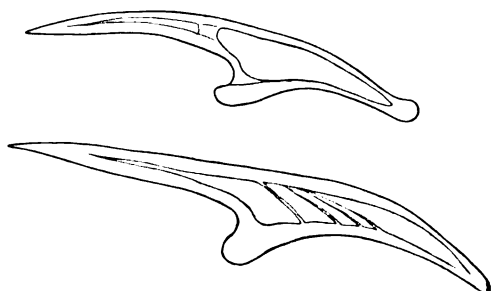


Fig. 33. Haken von *Monopylidium macracanthum* n. sp.

Hymenolepis tritesticulata n. sp.

Fig. 34—36.

Wirt: *Merganser castor* (Lin.).

Geographische Verbreitung desselben: Nordpolararktische Region, Südeuropa, China, Japan.

Die Typen finden sich im Museum f. Naturkunde in Berlin, Glas No. 2741.



Fig. 34.



Fig. 36.

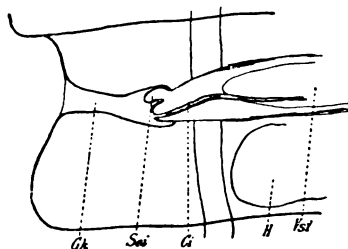


Fig. 35.

Fig. 34. Haken von *Hymenolepis tritesticulata* n. sp.

Fig. 35. Ausmündung der männlichen Geschlechtsorgane von *H. tritesticulata* n. sp. *Gk* Genitalkloake, *Ci* Cirrus, *Sci* Sacculus accessorius internus, *Vsi* Vesicula seminalis interna, *H* Hoden.

Fig. 36. Keimstock und Dotterstock von *H. tritesticulata* n. sp.

Diese neue *Hymenolepis*-Art hat eine Länge von 25 cm und eine Breite von 1,5 mm. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,17 mm und trägt 10 typisch geformte Haken von 0,032 mm Länge.

Bis 7 cm hinter dem Skolex sieht man nur männliche Geschlechtsorgane entwickelt, mit Spuren der Anlage der weiblichen Organe. In

einem 0,8 mm breiten Gliede liegen die Hoden (Durchmesser 0,12 bis 0,14 mm) fast in einer Linie und der äußerste dem Genitalpore gegenüberliegende Hoden ist deutlich nach vorn verschoben, ohne aber vor dem 2. Hoden zu liegen. Der 0,28 mm lange Cirrusbeutel enthält eine sehr große Vesicula seminalis interna. Der Penis ist dicht bedornt und trägt an seiner Basis einen deutlichen, oft ausgestülpten Saccus accessorius internus, wie solcher auch bei *H. anatina* und *H. coronula* vorkommt. Die Vesicula seminalis externa ist deutlich entwickelt.

Die weiblichen Geschlechtsorgane entwickeln sich, wie oben bemerkt, erst weit hinter dem Skolex, aber dann sehr rasch, denn schon 11 cm hinter dem Kopfe beginnt der Uterus sich mit Eiern zu füllen. Die Vagina besitzt ein großes Receptaculum seminis. Das Ovarium ist asymmetrisch, indem die antiporale Seite desselben größer und viel stärker gelappt ist als die andere Seite des Keimstockes. Die Breite des Ovariums ist 0,34 mm, die des Dotterstockes 0,11 mm, bei einer Breite der Proglottis von 1 mm. Die Oncosphären sind von sphärischen Hüllen umgeben und sind dieselben nicht länglich-oval wie bei *H. tenuirostris* einer *Hymenolepis*-Art, welche ähnliche Haken hat und in demselben Vogel vorkommt. Durchmesser der Oncosphäre 0,018; Durchmesser der Hüllen 0,034 und 0,045 mm.

Hymenolepis echinocotyle n. sp.

Fig. 37—38.

Wirt: *Spatula clypeata* (Lin.).

Geographische Verbreitung: Nördliche Hemisphäre.

Fundort: Zoologischer Garten Berlin; Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 4048.



Fig. 37.

Fig. 37. Haken von *Hymenolepis echinocotyle* n. sp.

Fig. 38. Oncosphäre von *H. echinocotyle* n. sp.



Fig. 38.

Dieser Cestode besitzt eine Länge von ca. 5 cm und eine Breite von 0,5 mm. Der Rand der Saugnäpfe des Skolex ist bewaffnet mit etwa 8 Reihen feiner Häkchen, doch konnte ich die für das Subgenus *Echinocotyle* typischen 3 Bänder medianer Hakenreihen nicht konstatieren. Die Haken des Rostellums zeigen Ähnlichkeit mit denjenigen der *Echinocotyle*-Arten; sie messen 0,03 mm.

Die Muskulatur zeigt wie bei *Echinocotyle* die 4 dorsalen und ventralen Längsbündel, welche sehr stark entwickelt sind. Die Diagonalmuskulatur, welche bei den *Hymenolepis*-Arten nicht selten auftritt, ist hier recht deutlich entwickelt.

Die Geschlechtsorgane beginnen sich bereits direkt hinter dem Skolex zu entwickeln und 1 cm hinter demselben ist der Uterus bereits von Eiern erfüllt. Im männlichen Geschlechtsapparat zeigen sich einige Dispositionen, welche nicht mit der Anatomie der *Echinocotyle*-Arten übereinstimmen, so daß also obige Art nicht in dieses Subgenus gehört, sondern eine *Hymenolepis*-Art mit bewaffneten Saugnäpfen ist. In den sehr kurzen Gliedern liegen die Hoden in einer Linie und liegt der 3. Hoden nicht vor dem 2. wie bei *Echinocotyle*. Der Cirrusbeutel ist 0,16 mm lang bei einem Durchmesser von 0,012 mm; es besteht eine Vesicula seminalis interna und externa. Der für die

Echinocotyle-Arten typische *Sacculus accessorius* fehlt hier ganz.


Dotterstock und Ovarium sind wegen der Kürze der Glieder breit und nicht gelappt. Ein *Receptaculum seminis* ist entwickelt. Der Uterus ist ein nicht über die Wassergefäße hinausgehender quer verlaufender Schlauch. Die Oncosphären sind längsoval und von einer starken spindelförmigen Hülle umgeben. Die äußere Hülle ist stark längsoval; zwischen ihr und der spindelförmigen Hülle liegen immer mehrere Zellen. Die Längsdurchmesser der Oncosphäre und der beiden Hüllen sind: 0,027, 0,075, 0,099 mm (s. Fig. 38).

Hymenolepis passerina n. sp.

Fig. 39.

Wirt: *Turdus parochus*¹⁾.

Fundort: Aegypten, Suckot; Museum f. Naturkunde Berlin, Glas No. 2359.

 Fig. 39. Haken von *Hymenolepis passerina* n. sp.

Wie die vorhergehende Art, ist auch diese mit Haken bewaffnet, welchen denjenigen von *H. fringillarum* ähnlich sind; doch sind sie kleiner als diese, denn sie messen nur 0,02 mm; ihr vorderer Hebelast ist bedeutend schwächer entwickelt als bei oben genannter Art. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,20 mm und das Rostellum einen solchen von 0,03 mm. Die Länge des Wurmes ist nicht bedeutend; Genaueres hierüber kann ich nicht angeben, da nur Fragmente vorliegen; die größte Breite derselben ist 1,5 mm. Die Gliederung der Strobila beginnt 0,6 mm hinter dem Skolex.

Der Cirrusbeutel ist nur 0,2 mm lang und überschreitet nur wenig die beiden Längswassergefäße. Er enthält eine große *Vesicula seminalis interna* und die ebenfalls große *Vesicula seminalis externa* beginnt sofort bei Austritt des *Vas deferens* aus dem Cirrusbeutel. Von den 0,13 mm im Durchmesser messenden Hoden liegen die beiden antiporale vor-einander. Das Ovarium ist wenig gelappt und nimmt die ganze Breite und Länge des Muskelparenchyms ein; der Dotterstock ist 0,13 mm breit. Das *Receptaculum seminis* ist noch in den reifen vom Uterus erfüllten Gliedern 0,2 mm lang und 0,16 mm im Durchmesser messend. Die Oncosphären tragen 0,018 mm lange *Hamuli embryonales*, die die erstere umgebende Schalen messen 0,03 und 0,056 mm.

Hymenolepis phasianina n. sp.

Fig. 40—41.

Wirt: *Phasianus colchicus*.

Die neue *Hymenolepis*-Art stammt aus *Phasianus colchicus*. Der Hakenform nach gehört sie in die Gruppe der *Hymeno-*



Fig. 40.

Fig. 40. Haken von *Hymenolepis phasianina* n. sp.

Fig. 41. Oncosphäre von *H. phasianina* n. sp.

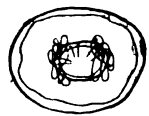


Fig. 41.

1) Dieser Artname wird von Ehrenberg und Hemprich, den Sammlern dieses Cestoden, angegeben, doch scheint derselbe in der Literatur nicht zu existieren.

lepis angulata und *tenuirostris*. Die 10 Haken des 0,38 mm im Durchmesser messenden Skolex sind 0,0234 mm lang. Die Strobila mißt wenigstens 12 cm, bei einer maximalen Breite von 2,5 mm. Die Anatomie zeigt keine besonderen Eigentümlichkeiten.

Der Cirrusbeutel ist 0,24–0,28 mm lang und überschreitet nur wenig das ventrale Längsgefäß des Exkretionssystems. Von den 3 Hoden liegen die beiden antiporalen voreinander. Die weiblichen Geschlechtsdrüsen zeigen die gewöhnliche Entwicklung, ein ziemlich großes *Rec. seminis* ist vorhanden und nur die den sackförmigen Uterus erfüllenden *Oncosphären* zeigen in ihrer Umhüllung eine bei *Hymenolepis*-Arten seltene Eigentümlichkeit. Die *Oncosphäre* besitzt einen Durchmesser von 0,045 und trägt sehr große 0,021 mm lange *Hamuli embryonales*. Die den Embryo umhüllende Membran zeigt an den beiden Polen sehr lange um dieselben aufgewickelte feine Fäden (Fig. 41). Die äußere Schale hat einen Durchmesser von 0,1 mm.

Hymenolepis parina n. sp.

Fig. 42.

Wirt: *Parus major* Lin.

Geographische Verbreitung des Wirtes: Europa und Sibirien.

Fundort: Europa.

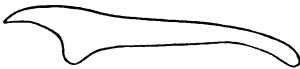


Fig. 42. Haken von *Hymenolepis parina* n. sp.

Dieser kleine Cestode ist nur 1–2 mm lang und 0,5 mm breit. Sein Skolex zeigt einen Durchmesser von 0,16 mm und trägt 10 Haken, welche eine große Ähnlichkeit mit denjenigen von *H. fringillarum* (Rud.) haben, aber mehr als doppelt so lang sind, indem sie 0,06 mm messen. In den 0,34 mm breiten kurzen Gliedern ist der Cirrusbeutel 0,1 mm lang, während er in den reifen 0,44 mm breiten Segmenten 0,16 mm lang ist. Der Cirrus ist dicht bestachelt und wird der austülpbare Teil desselben (0,08 mm lang) von Hämalaun sehr stark gefärbt. Von den 3 Hoden liegen die beiden antiporalen voreinander. Ueber die weiblichen Geschlechtsorgane ist nichts Besonderes zu erwähnen.

Schistotaenia macrorrhyncha Rud. und

Schistotaenia scolopendra Dies.

Die oben genannten Cestoden wurden von Cohn¹⁾ und erstere neuerdings von Clerc²⁾ eingehender untersucht.

Obwohl Cohn die Originalmaterialien der beiden Cestoden gesehen, hat er nicht die absolut sichere Identität der beiden Tänien erkannt, da er von *Sch. scolopendra* die Haken nicht mit denjenigen von *Schistotaenia macrorrhyncha* Rud. vergleichen konnte. Ich habe die Originalien ebenfalls gesehen und konnte mich, wie eben bemerkt, von der Identität der beiden Arten überzeugen.

1) Cohn, L., Zur Anatomie der Vogelcestoden. I. (Zeitschr. f. wiss. Zoologie. p. 265–277.)

2) Clerc, W., Notes sur les cestodes d'oiseaux de l'Oural. III. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XLIII. 1907. p. 704–708.)

Die Beschreibung Cohns ist nach schlecht erhaltenem Material gemacht und hat Clerc dieselbe ergänzt und berichtigt.

Im wichtigsten Punkt der Anatomie dieser Tänie muß ich aber, nach Untersuchung eines gut konservierten Materiales in Sagittalschnitten, Cohn recht geben. Clerc behauptet nämlich, daß der Penis, da die Vagina fehlt, in der Mitte des Körpers das Parenchym durchbohrt und dorsal oder ventral bis ins Receptaculum seminis vordringt, das er so mit Spermatozoen füllt. Es existiert also nach ihm kein dorso-ventraler, median, dorsal und ventral ausmündender Kanal. Es wäre also nach seinen Beobachtungen aus der Diagnose des Genus *Schistotaenia* das interessanteste und wichtigste Merkmal zu streichen. Nach unseren Beobachtungen existiert aber ein dorsoventraler Kanal in den jüngsten Gliedern bereits als ein dünner Zellstrang und ist er somit nicht ein durch das Eindringen des Penis produziertes Gebilde. Es bleibt also die Diagnose Cohns bestehen, nur dürfte sie etwas anders gefaßt werden und sollte lauten: Bewaffnete Cystidotänien mit seitlichen Anhängen an den Proglottiden. Männliche Genitalporen unregelmäßig abwechselnd. Vagina und Vaginalöffnung fehlt; an ihrer Stelle ein dorsoventraler, median, dorsal und ventral ausmündender Befruchtungsgang (accessorische Vagina). Die Existenz einer accessorischen Vagina hat *Schistotaenia* mit *Amabila* und *Tatria* gemein.

Tetracisdictyla macroscolecina n. sp.

Fig. 43.

Wirt: *Butorides virescens* (Lin.).

Geographische Verbreitung des Wirtes: Zentralamerika und Antillen.

Fundort: Brasilien; k. k. Hofmuseum in Wien, Glas No. 308.

Wenn ich dieser Art, obwohl ich sie nur sehr unvollständig beschreiben kann, einen neuen Genus- und Artnamen gebe, so geschieht dies nur, weil es sicher ist, daß der betreffende Cestode neu und weil ich die Aufmerksamkeit der Helminthologen auf diese Form lenken möchte, welche für Tänien ganz besondere Strukturverhältnisse des Skolex zeigt, welche mir aufzuklären nicht möglich ist, da der Erhaltungszustand des betreffenden Cestoden ein sehr mangelhafter ist.

Der Wurm, der noch keine mit Oncosphären erfüllte Glieder hat, ist ca. 1 cm lang und zeigt einen sehr großen Skolex und eine Strobila, die undeutlich segmentiert ist. Der Skolex zeigt einen Durchmesser von 1,1 mm, er besitzt kein Rostellum, aber 4 sehr große, 0,4 mm im Durchmesser messende Saugnäpfe, welche sich gegenseitig berühren. Diese Saugnäpfe zeigen nach dem dem Halse zugewandten Rande ein eigentümliches Muskelorgan, das wie ein vom großen Saugnapf umschlossenes Haftorgan aussieht, ja es scheint sogar — dies ist aber wohl eine optische

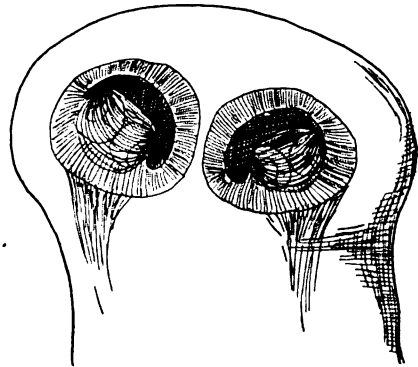


Fig. 43. Skolex von *Tetracisdictyla macroscolecina* n. sp.

Täuschung — als ob 2 kleinere Saugnäpfe im großen eingeschlossen wären. Die Figur gibt nähere Auskunft über die Verhältnisse, soweit sie an dem schlecht erhaltenen Material beobachtet werden konnten. Direkt hinter dem Skolex beginnt die undeutliche Segmentation. Die letzten, noch nicht ganz reifen Glieder, welche nur durch eine ganz schwache Einschnürung äußerlich getrennt sind, haben eine Breite von 1,1 mm und eine Länge von etwa 0,47 mm. Die Genitalöffnungen sind unregelmäßig abwechselnd. Der große Cirrusbeutel hat eine Länge von 0,24 mm; das Vas deferens bildet zahlreiche Schlingen; die Hoden scheinen zahlreich zu sein. Von den weiblichen Genitalien sehe ich nur die muskulöse vor dem Cirrusbeutel ausmündende Vagina.

Nachdruck verboten.

Beitrag zur Hämolysinbildung der Typhusbacillen.

[Mitteilung aus dem Laboratorium der I. med. Klinik in Budapest
(Direktor: Prof. Fr. v. Korányi).]

Von Dr. **Jullus Kentzler**, Interner der I. med. Klinik.

Die bakterielle Hämolysinbildung wurde in den letzten Jahren schon von mehreren Seiten bei verschiedenen Bakterienarten gefunden, und zwar zuerst bei Tetanusbacillen (Ehrlich, Madsen etc.), in dem Toxine derselben, genannt das Tetanolsin, nachher wurde in der Kulturflüssigkeit des *Staphylococcus pyogenes aureus* und *albus* das Staphylolysin (Neisser-Wechsberg) aufgefunden, dann wurden das Streptolysin, Pyocyanolysin (W. Bulloch u. W. Hunter), später auch die Hämolsine verschiedener anderer Mikroorganismen, z. B. die Lysine bei Anthrax, *Bac. coli*, *Bac. diphtheriae*, bei den verschiedenen Vibrionen (*Cholera* etc.), bei Pestbacillen etc. nachgewiesen.

Es können auch bei gleichen Bacillenarten schon in der Produktion der hämolytischen Stoffe wesentliche Unterschiede auftreten. So fiel es z. B. J. Kerner, dessen Versuche auf 16 Streptokokkenstämmen sich erstreckten, auf, daß die Bildung der hämolytischen Stoffe bei den virulentesten Stämmen am stärksten auftrat, und durch Tierpassagen nicht nur die Virulenz, sondern auch die Hämolysinbildung gesteigert werden kann, und daß bei längerer Kultivierung nicht nur die Virulenz, sondern auch die Lysinbildung sich verminderte, in einzelnen Fällen sogar gänzlich aufhörte.

Auch wurde schon von mehreren Seiten bestätigt, daß es auch unter den gleichen Bacillenarten Stämme gibt, welche überhaupt gar keine hämotoxischen Stoffe produzieren, wogegen andere Kulturen derselben Bacillenart starke Hämolysinbildung aufweisen können. So wurde dieses von A. Lohr und von P. van Durme bei Staphylokokken, von J. Schnorner bei Diphtheriebacillen etc. gefunden.

Bei Typhusbacillen wurden auch Hämolsine nachgewiesen (E. und P. Lewy), jedoch sind die Befunde nicht so zahlreich, wie bei anderen Bakterienarten (*Staphylococcus*, *Streptococcus* etc.). Ich finde die Ursache darin, daß bei Typhusbacillen die Hämolysinbildung nicht so häufig, wie bei anderen Mikroorganismen erscheint.

Meine Untersuchungen beziehen sich auf 7 Typhusstämme. Davon wurde ein Stamm aus den Dejekten einer Typhuskranken, ein zweiter Stamm aus dem Blute eines anderen Typhuskranken gezüchtet. Ein Stamm konnte aus einem Brunnenwasser isoliert werden, welches eine umschriebene, wenn auch ziemlich große Epidemie verursacht hatte. Einen Stamm erhielt ich aus dem I. pathologischen, zwei Stämme aus dem bakteriologischen Institut der Universität, ein Stamm wurde mir aus dem Král-schen bakteriologischen Laboratorium in Prag zugesandt.

Bevor ich meine Untersuchungen begann, wurden alle Stämme auf ihre Identität sorgfältig untersucht. Dieselbe wurde sowohl kulturell, wie auch durch spezifische Immunitätsreaktionen (Agglutination, Bakteriolyse) erwiesen, und als, jeden Zweifel ausschließend, die Identität der Bacillenstämme gesichert war, nahm ich die Versuche auf, deren Ergebnisse ich kurzgefaßt hier mitteile.

Unter 7 Stämmen konnte die Hämolysinbildung nur bei einem nachgewiesen werden. Dieser Stamm wurde aus dem Kote eines schweren Typhusfalles (15 Jahre altes Mädchen) gezüchtet. Die Krankheit verlief in diesem Falle sehr schwer, es zeigten sich wiederholte heftige Darmblutungen, es bestanden auch peritoneale Reizungssymptome. Die Typhusbacillen wurden in der 3. Woche der Krankheit aus dem Stuhle gezüchtet; diese Bacillen unterschieden sich auch dadurch von anderen, daß sie bedeutendere Widerstandskraft gegen das Immunserum besaßen. Die bakterizide Wirkung dieses Serums war in diesem Falle nicht so stark ausgeprägt, wie bei anderen Typhusstämmen. Agglutination trat jedoch auch bei 30 000-facher Verdünnung des Immunserums ein, so daß betreffs der Agglutination dieser Stamm keinen Unterschied gegenüber den anderen aufwies.

Die Bacillen wurden auf Glycerinbouillon gezüchtet, und die Bildung eines Hämolysins konnte am 3. Tage wahrgenommen werden. In den ersten Tagen war die Menge der gebildeten Lysine gering. Am 1. Tage konnte ein Teil Bacillenbouillon nur zwei Teile einer 3-proz. Blutzellenemulsion gänzlich lösen. Dann stieg die Lysinbildung, erreichte das Maximum am 12. Tage, da ein Teil Bacillenbouillon 45 Teile 3-proz. Blutzellenemulsion gänzlich auflösen vermag. Nach dem 12. Tage ließ die hämotoxische Wirkung nach, am 27. Tage war der Lösungstiter 1:16, nach 9 Tagen wieder 1:15, wieder nach 6 Tagen, d. h. am 42. Tage, war derselbe nur 1:3 und konnte nach dem 45. Tage nicht mehr nachgewiesen werden.

Die Hämolysine waren in der Kultur nicht an die Bacillenleiber gebunden, sondern dieselben gingen auch in die Nährflüssigkeit über. Ich konnte mich davon überzeugen, da ich die Kulturen filtrierte, und zwar durch dickes und mehrfaches Filtrierpapier, wie auch durch Tonfilter. In beiden Fällen konnten die Lysine auch im Filtrat mit Sicherheit nachgewiesen werden, jedoch bestand zwischen diesen beiden Filtraten ein bedeutender Unterschied, welcher sich darin äußerte, daß das Lysin, welches ich nach dem Filtrieren durch Titrierpapier gewann, seine ursprüngliche Lösungskraft beibehielt, während die lytische Fähigkeit des durch Tonfilter gewonnenen Filtrates in erheblichem Maße abgenommen hat, z. B. an dem Tage war der Lösungstiter der Bouillon und des Filtrates I (durch Filterpapier) 1:30, derjenige des Filtrates II (durch Tonfilterkörper) nur 1:8, nach dem 15. Tage konnte man in den letzteren keine Hämolyse nachweisen. (Die Filtrate wurden jeden Tag frisch nach dem Abfiltrieren untersucht.)

Die Ursache kann man darin suchen, daß die Lysine durch das Filterpapier durchgehen, hingegen durch den Filterkörper nicht, die Poren des Filterkörpers lassen nur am Beginne des Filtrierens die Lysine durch, später werden die Poren noch enger, und so dringen die gewiß aus größeren Molekülen bestehenden Lysine nicht mehr durch. In späteren Tagen wurde die Bouillonkultur etwas dickflüssiger, was vielleicht die Ursache des schlechteren Filtrierens gewesen sein konnte. Einen ähnlichen Umstand fand auch Meinecke bei Choleravibrionen, in deren Filtrat die sonst in der Kultur nachgewiesenen Lysine nicht aufgefunden werden konnten, wie bei anderen Vibrionenarten. Es kann sein, daß es sich auch um eine Arteigentümlichkeit gewisser Bacillen handelt.

Die Kultur selbst, wie auch die Filtrate, wurden verschiedenen Temperaturen ausgesetzt. Es wurde gefunden, daß alle nach $\frac{1}{2}$ -stündigem Erhitzen bei 56° ihre volle Lösungskraft behielten, es konnte sogar nach 1-stündigem Erhitzen bei 60° keine wesentliche Abnahme der Wirksamkeit gefunden werden, entgegen anderen Bacillenarten (Tetanus, Streptococcus, Staphylococcus), deren Hämolsine nach einem $\frac{1}{2}$ -stündigen Erhitzen bei 56° ihre Lösungskraft gänzlich einbüßen. Der untersuchte Typhusstamm verlor bei 100° Erhitzen schließlich auch seine lytische Kraft.

Die Lysine habe ich auf Menschen-, Kaninchen-, Schweine- und Rindererythrocyten angewendet. Ein größerer Unterschied konnte nicht gefunden werden. Menschenerythrocyten waren etwas resistenter als die anderen Arten.

Ich habe auch Versuche gemacht, durch Immunisierung mit lebenden und getöteten (60° Erhitzen 1 Stunde lang) Bacillen, wie auch mit Filtraten, eine Antilysinbildung zu erreichen. Die Tiere blieben gesund, die durch Aderlässe gewonnenen Sera zeigten kein antilytisches Vermögen.

Meine Versuche stehen im Einklange mit den Ergebnissen Anderer. Die ersten, die eine Hämolsinbildung der Typhusbacillen beschrieben, E. und P. Lewy, haben zwar keine exakten Angaben über ihre Versuche mitgeteilt, sie beschränkten sich vielmehr nur auf den Nachweis der Lysine, die weiteren Versuche von H. Kayser, Ziklinskaja, Besredka, Williamson zeigten aber, daß die Lysine der Typhusbacillen ebenso thermostabil sind, wie diejenigen des *Bacillus coli* und *pyocyaneus*.

Bemerkenswert ist es, daß eine Hämolyse unter den untersuchten 7 Stämmen nur einmal gefunden werden konnte, und zwar bei dem Stamme, welchen ich von einer schweren Infektion gewann. Die eine Kultur stammte von einem leicht Erkrankten her, die anderen waren, außer dieser, welche aus Wasser gezüchtet wurde, alle Laboratoriumsstämme. Dieses Zusammentreffen der erhöhten Virulenz und der Hämolsinbildung kann nach meiner Ansicht nicht ein zufälliges sein. Daß die beiden Vorgänge miteinander in Zusammenhang sein können, wurde bei anderen Bakterienarten schon erwiesen, so bei Staphylokokken (C. Fraenkel und Baumann), Streptokokken (J. Kerner) etc. Es ist nicht gänzlich ausgeschlossen, daß bei schweren Infektionen die Schwere der Krankheit auch durch diese Eigenschaften der Bacillen bedingt sein kann, da, wie Besredka erwiesen hatte, die bakteriellen Hämolsine eine ebenso toxische Wirkung besitzen, wie andere Bakterientoxine.

Nachdruck verboten.

Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsera.

Ein Beitrag zur Frage der Agglutinationshemmung und zur Kenntnis des Typhusdiagnostikums nach Flecker.

[Mitteilung aus dem hygienisch-bakteriologischen Institut (Prof. Saltet) der Universität Amsterdam.]

Von Privatdozent Dr. **J. J. van Loghem**, Assistenten.

§ 1. Einleitendes.

Die Tatsache, daß bei Agglutinationsversuchen, durch welche die agglutinierende Wirkung eines Serums in verschiedenen Konzentrationen festgestellt wird, öfters zuerst in einer der schwächeren Konzentrationen die Flockenbildung am deutlichsten hervortritt, ist wohlbekannt; nach längerer oder kürzerer Zeit folgt dann die Reaktion in den anderen Konzentrationen. Praktisch hat diese Hemmungserscheinung Bedeutung, insofern sie zusammenhängt mit der Erscheinung eines völligen Ausbleibens der Agglutination in den stärkeren Konzentrationen, wie sie nicht so ganz selten bei Krankenseris beobachtet wird. Theoretisch verdient dieselbe Interesse, weil auch bei Untersuchungen mit anderen Antikörpern solche Hemmungen in den stärkeren Konzentrationen (maximale Wirkungen bei bestimmten Konzentrationen) beobachtet worden sind. Arrhenius hat denselben in seinem Buche¹⁾ an mehreren Stellen Bemerkungen gewidmet; p. 101 schreibt er:

„Erscheinungen dieser Art will man oft auf die Gegenwart zweier Substanzen von entgegengesetzter Wirkung in der angewandten Mischung²⁾ zurückführen. So nimmt man an, daß mit Säuren u. s. w. vorbehandeltes Agglutinin außer dem wirklichen Agglutinin eine zweite, Agglutinoid genannte, Substanz enthält, die die Agglutination hindert. Bei größerer Konzentration, nimmt man weiter an, absorbieren die Bacillen hauptsächlich das Agglutinoid und nicht das Agglutinin; bei niederer Konzentration absorbieren sie beides. Diese Erklärung scheint mir nicht weiter zu führen, als die einfache Feststellung der Tatsache, und sich dem Gedächtnis viel schwerer einzuprägen. Da scheint es einfacher, anzunehmen, daß die wirksame Substanz zwei verschiedene Wirkungen auf die Zellen ausübt²⁾, von denen die eine, die bei höherer Konzentration in Erscheinung tritt, die andere, die bei niederen Konzentrationen vorwiegt, an der Entfaltung hemmt. Ähnlich gibt z. B. Alkali in einer Aluminiumchloridlösung einen Niederschlag von Tonerdehydrat, der bei weiterem Alkalizusatz in Lösung geht.“

Auf eine gewisse Art von Hemmungserscheinungen in den stärkeren Konzentrationen, welche am besten bei frischen Seren zu studieren ist, wurde zuerst meine Aufmerksamkeit gelenkt bei der Untersuchung eines Typhuskrankenserums, das im frischen Zustande und auch nach Erwärmung auf 58° C außerordentlich starke Hemmungserscheinungen darbot, nach einigen Tagen aber dieselben teilweise zu verlieren anfang,

1) Arrhenius, Sv., Immunochemie. Leipzig 1907.

2) Sperrung von mir.

mit frischem Normalserum indessen wieder hergestellt wurde¹⁾. Aus Mangel an Material — das nächste Quantum hatte die Eigenschaft verloren — habe ich keine weiteren Versuche anstellen können. Nach weiteren Erfahrungen aber mit anderen Krankenserum und Tierserum, und nach Feststellung, daß verschiedenartige Hemmungen experimentell aufgehoben werden können, habe ich versucht, insbesondere des theoretischen Interesses wegen, die Erscheinung einer experimentellen Prüfung zu unterwerfen.

Volk und de Waele²⁾ haben, anläßlich einer Mitteilung von Lipstein über die Wirkung von frischen Immunsera auf Diphtheriebacillen, einen Anfang gemacht, die Frage der Agglutinationshemmung bei frischen Seren zu untersuchen. Sie fanden, daß Typhusbacillen, auf welche ein Immunserum mit Hemmungseigenschaften in den größeren Konzentrationen eingewirkt hatte, nach Auswaschung sich mit einem vollwirksamen Immunserum auch in höheren Konzentrationen inagglutinabel zeigten. Inwiefern frische Normalsera im stande sind, solche Hemmungen hervorzurufen, ist den Autoren aus Mangel an Material nicht festzustellen gelungen. Ihr Immunserum, mit welchem sie solche Versuche anstellten, wirkte mit dem hinzugefügten frischen Normalserum zu stark bakteriolytisch, um eine vielleicht stattfindende Hemmung einwandfrei festzustellen. Nach Erwärmung war natürlich die bakteriolytische Eigenschaft verschwunden, und Hemmung wurde dann nicht beobachtet.

Weiter haben Falta und Noeggerath³⁾ das Vorkommen von Hemmungskörpern in frischen menschlichen und tierischen Typhusseren öfters beobachtet; sie wiesen ihre Thermolabilität nach und trennten dieselben also von den bekannten thermostabilen Hemmungskörpern (Eisenberg und Volk).

Ueberdies gibt es von einigen Autoren Bemerkungen, welche mehr oder weniger unsere Frage berühren. So sei hier der Grundversuch der Bailschen Arbeit⁴⁾ über die Inagglutinabilität der Exsudatbakterien erwähnt. Weiter die interessante Beobachtung Schellers⁵⁾ von einem Serum, dessen Agglutinationstiter im frischen Zustande nach einigen Tagen um das doppelte erhöht war; dieser Autor hat auch beobachtet, daß man durch vorsichtiges Erhitzen eine vorhandene Hemmungszone in ihrer Breite herabsetzen kann, ohne die Reaktionsbreite des Serums sonst zu beeinflussen.

Inwiefern die Untersuchungen von Weil⁶⁾ über den Einfluß höherer Temperaturen (50—55° C) mit unserem Gegenstand zusammenhängen, und die Ergebnisse von Asakawa⁷⁾ von Agglutinationsversuchen in der Kälte, werde ich bei meinen diesbezüglichen Versuchen diskutieren.

Wenn man die Erscheinung an sich betrachtet — Hemmung der Agglutination in stärkeren Konzentrationen bei Versuchen mit frischen Immunseren und Ausbleiben der Hemmungserscheinung bei der Untersuchung desselben

1) van Loghem, J. J., Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XLIV. 1907. p. 186.

2) Volk, R. und de Waele, Wiener klin. Wochenschr. 1902. p. 1305.

3) Falta und Noeggerath, Deutsch. Arch. f. klin. Med. Bd. LXXXIII. 1905. p. 150.

4) Bail, O., Arch. f. Hyg. Bd. XLII. 1902. p. 307.

5) Scheller, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XXXVI. 1904. p. 694.

6) Weil, Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XXXVI. 1904. p. 677; Bd. XXXVII. 1904. p. 98.

7) Asakawa, Zeitschr. f. Hyg. und Infekt. Bd. XLV. 1903. p. 93.

Serums einige Tage später — liegt der Gedanke an die Anwesenheit „einer zweiten Substanz von entgegengesetzter Wirkung in der angewandten Mischung“ sehr nahe. Ueber die Natur der zweiten Substanz lehrt die Erscheinung aber nichts; ob dieselbe zu den normalen, rasch zerlegten Serumbestandteilen, den Komplementen, gehört oder zu den Immunkörpern, welche nur mit Hilfe von Komplement funktionieren. Zur Beantwortung dieser Frage habe ich erstens einige Versuche unternommen, aus welchen hervorgeht, daß wirklich bei den uns beschäftigenden Hemmungserscheinungen eine Art Komplementwirkung im Spiele ist (Versuche mit frischen, resp. aktivierten, und alten, resp. inaktivierten Immunseren und über den Verlauf der Agglutinationsreaktion bei höheren Temperaturen). Besonders habe ich mich dann bemüht, die Bedeutung der bei der Reaktion benutzten Bacillensuspensionen für die Hemmungserscheinung festzustellen, nachdem ich die Erfahrung gemacht hatte, daß gewisse Hemmungen, welche man bei Versuchen mit lebenden Bacillen beobachtet, durch Anwendung von nach Ficker geschädigten Bacillen neutralisiert werden können. Die Frage der Komplementbindung von solchen Bacillensuspensionen lag damit auf der Hand.

Zur Entscheidung — vom seitenkettentheoretischen Standpunkte wenigstens — ob das Komplement vielleicht mit Hilfe eines Ambozeptors hemmt, habe ich die Agglutinationserscheinung untersucht mit Seren von Tieren, immunisiert mit Suspensionen (Ficker), deren Agglutination nicht in den stärkeren Konzentrationen gehemmt wird.

Weiter wurden dann auch Versuche angestellt mit Sera, welchen durch Schädigung (hohe Temperatur) die schon von vielen Autoren studierten, hemmenden Eigenschaften beigebracht worden waren.

Schließlich wurde ich durch die Resultate veranlaßt, die Natur des Fickerschen Diagnostikum auch in anderer Richtung zu untersuchen, um festzustellen, welche Rezeptoren des lebenden Typhusbacillus im Fickerschen Bacillus erhalten sind. Es wurden also Immunisierungsversuche mit dem Diagnostikum unternommen und die betreffenden Sera in Vergleich mit auf andere Weise dargestellten Immunseren nach dem Komplementsablenkungsverfahren von Bordet und Gengou mit verschiedenartigen Bacillensuspensionen geprüft.

§ 2. Wirkung von frischen und alten, resp. reaktivierten und inaktivierten Typhusimmunseren auf lebende Typhusbacillen.

[Technik. Zu meinen Versuchen wählte ich einen Stamm (Ty. lab.) aus der Sammlung unseres Institutes, welcher, wie Vorversuche und Vergleichen mit sechs anderen Stämmen mir gezeigt hatten, einerseits die Hemmungserscheinungen mit frischen Seris sehr schön zu Tage brachte, andererseits, wie die folgenden Protokolle lehren, sich als sehr brauchbar für Agglutinationsversuche erwies. Die Endreaktionen traten in der Form kompletter Klärifikationen auf, und der Stamm wurde von einem aus Berlin bezogenen Pferdeserum über die angegebene Titergrenze agglutiniert.

Für die Agglutinationsversuche kamen kleine Reagenzröhrchen in Anwendung, in welchen eine Quantität von 1 ccm eine gute Beobachtung der Reaktion gestattet; die Suspensionen wurden von 20–24 Stunden alten Agarkulturen mit 0,85-proz. NaCl-Lösung angestellt in einer Dichte, welche der Trübung des Fickerschen Diagnostikum nahe kam. Während der Monate März, April, Mai und Juni wurde der Stamm fast täglich von jungen Kulturen weiter gezüchtet.

Die Beobachtung geschah im allgemeinen nur makroskopisch, mit 2 D. myopem Auge; in den Tabellen ist nur das makroskopische Sichtbarwerden der Reaktion bezeichnet; + bedeutet Anfang der Reaktion; (+) Anfang nur mit Mühe erkennbar; der weitere Verlauf ist durch mehrfache +-Zeichen angedeutet; eine doppelte Reihe

bedeutet anfangende Sedimentierung; clar. = komplette Klarifikation; (clar.) = fast komplett.]

Als erstes Beispiel der Aenderungen, welche ein frisches Immunserum nach einigen Tagen aufweist, folgt hier das Resultat der Agglutinationsversuche mit einem Kaninchenserum A, (das Tier wurde am 27. Mai und 3. Juni mit $\frac{1}{4}$ Agarkultur lebender Typhusbacillen [Ty. lab.] intraperitoneal behandelt), das von Blut am selben Tage aus der Ohrvene entnommen, durch Zentrifugieren dargestellt wurde. Das Serum wurde zwischen den Versuchen a und b im Eisschrank aufgehoben (Tabelle I, a und b).

Tabelle I.

Versuch a, am 11. Juni.

Frisches Typhusimmunserum mit lebenden Typhusbacillen.

Verdünnung =	(Kontrolle)	25	80	250	800	2500
1 Std. 37°	—	—	—	—	—	—
1 Std. 37°	—	—	+	+	+	—
1 Std. Z.-T.	—	(+)	+++	+++	+++	—
3 Std. Z.-T.	—	(clar.)	clar.	clar.	(clar.)	—

Versuch b, am 14. Juni.

3 Tage altes Typhusimmunserum mit lebenden Typhusbacillen.

1 Std. 37°	—	+++ (clar.)	++	+	—	—
1 Std. Z.-T.	—	clar.	++++	++	—	—
2 Std. Z.-T.	—	clar.	(clar.)	+++++	—	—
20 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	clar.	++	—

Die Hemmungserscheinungen waren also (in den angewandten Verdünnungen wenigstens) völlig verschwunden. Mit dem Versuch b wurde ein paralleler Versuch (mit derselben Suspension) gemacht, indem zu den Quanten des 3 Tage alten Immunserums gleiche Quanta frischen normalen Serums eines Kaninchens zugesetzt wurden; diese Mischung wurde 1 Stunde bei 37° gehalten, dann wurden die Bacillen zugefügt.

Tabelle I (Fortsetzung).

Versuch c, am 14. Juni.

3 Tage altes Typhusimmunserum + frisches Normalserum mit lebenden Typhusbacillen (vergl. Versuch b).

Verdünnung =	(Kontrolle)	25	80	250	800	2500
1 Std. 37°	—	—	—	—	—	—
1 Std. Z.-T.	—	(+)	+	+	—	—
2 Std. Z.-T.	—	+++	+++	+++	—	—
20 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	clar.	++	—

Durch das frische Normalserum waren also wieder Hemmungserscheinungen hervorgerufen; es kann hinzugefügt werden, daß $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° erwärmtes Normalserum diesen Einfluß nicht hatte und ein Resultat völlig gleich wie bei Versuch b gab.

Geben die Versuche der Tabelle I schon die Vorstellung, daß bei den Hemmungserscheinungen in den stärkeren Konzentrationen eine Komplementwirkung im Spiele ist, so wurde dies durch Versuche mit einem bei 56° C inaktivierten Serum und weiter durch einen Agglutinationsversuch bei 56° bestätigt. Es folgt hier Tabelle II mit den Resul-

taten dieser Versuche: a) mit dem frischen Serum eines Kaninchens B (am 27. Mai, 3. Juni und 11. Juni mit lebenden Bacillen behandelt wie Kaninchen A der Tabelle I); b) mit demselben Serum, $\frac{1}{2}$ Stunde auf 56° C erwärmt; c) mit dem frischen Serum, bei 56° (im Wasserbade.)

Tabelle II.

Versuche am 15. Juni.

a) Frisches Typhusimmunserum mit lebenden Typhusbacillen.

Verdünnung	(Kontrolle)	25	80	250	800	2500
1 Std. 37°	—	—	—	—	—	—
$\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	—	—	(+)	—	—
1 Std. 37°	—	—	—	+	—	—
1 Std. Z.-T.	—	—	—	+	(+)	—
4 Std. Z.-T.	—	+++++	+++++	(clar.)	(clar.)	—

b) Dasselbe Serum, inaktiviert, mit derselben Suspension.

1 Std. 37°	—	(+)	(+)	(+)	(+)	—
$\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	+++	++	+	(+)	—
1 Std. Z.-T.	—	+++++	+++	+++++	++	—
4 Std. Z.-T.	—	+++++	+++	+++++	+++++	—
		(clar.)	(clar.)	(clar.)	+++++	—

c) Dasselbe frische Serum mit derselben Suspension bei 56° C.

1 Std. 56°	—	(+)	+	—	—	—
$\frac{1}{2}$ Std. 56°	—	+	+	+	+	—
1 Std. 56°	—	+	+	+	+	—
1 Std. Z.-T.	—	+++	+++++	+++++	++	—
4 Std. Z.-T.	—	(clar.)	(clar.)	(clar.)	+++	—

Das Resultat dieser Versuche ist unzweideutig; während auch das frische Serum des Kaninchens B deutliche Hemmungserscheinungen in den stärkeren Konzentrationen aufwies (nach $2\frac{1}{2}$ Stunden bei 37° C und 1 Stunde Zimmertemperatur waren die Verdünnungen 1:25 und 1:80 noch negativ), fingen das inaktivierte Serum und das Serum bei 56° schon nach 1 Stunde an zu agglutinieren. Es sei bemerkt, daß die Endreaktion in Versuch a in der Verdünnung 1:800 schöner ausfiel, als in den beiden anderen Versuchen.

Ein gewisser Widerspruch zwischen den Resultaten der obigen Versuche und den bekannten Mitteilungen Weils, daß der Agglutinationsverlauf bei $50-55^{\circ}$ C am schnellsten geht, rascher auch als mit einem inaktivierten Serum, ist nur scheinbar. Erstens arbeitete Weil nicht mit frischen Sera, zweitens nicht bei einer Temperatur von 56° C; außerdem benutzte er Bouillonemulsion und hochwertigere Sera und beobachtete nur für seinen Zweck ausgewählte schwache Konzentrationen. Weil hat also vielleicht ganz recht, wenn er die von ihm beobachtete Erscheinung als eine bei höherer Temperatur schneller verlaufende Reaktion betrachtet. Auf der anderen Seite geht aber aus meinen Versuchen deutlich hervor, daß, wenn man frische Sera bei 56° C agglutinieren läßt, ihre Hemmungseigenschaft wohl teilweise unterdrückt wird, sie aber durch vorheriges Erhitzen auf 56° C weit besseres Resultat geben. Tatsachen, welche aus der allmählichen Zerstörung eines thermolabilen Komplementes ganz einfach zu erklären sind.

Vielleicht ist auch bei den Versuchen, in welchen man eine Beschleunigung der Agglutinationsreaktion bei sehr niedrigen Tempera-

turen beobachtet hat, das Ausbleiben einer Komplementbindung im Spiele.

§ 3. Wirkung von frischen Typhuskranken- und Tierseren auf das Typhusdiagnostikum nach Ficker.

Es wurde schon in den einleitenden Bemerkungen erwähnt, daß die Hemmungserscheinungen von frischen Immunseren, hervorgerufen durch den Gebrauch des Typhusdiagnostikum nach Ficker, ganz (oder fast ganz) beseitigt werden können. Seitdem ich die schon zitierte Erfahrung mit dem hemmenden Krankenserum gemacht habe, widmete ich den Hemmungen besondere Aufmerksamkeit, und untersuchte einige Kranken- und Tiersera möglichst frisch bezüglich ihrer Wirkung auf lebende und nach Ficker behandelte Bacillen. Ein Fall¹⁾, wie der mit „Serum Kl.“ (das in keiner Verdünnung lebende Bacillen agglutinierte, mit dem Fickerschen Diagnostikum aber prompt reagierte; die stärkeren Konzentrationen folgten schon nach einigen Minuten, dann folgte die schwächere bis 1:500), ist mir bis jetzt nicht wieder vorgekommen. Hemmungen auf die Agglutinationsreaktion habe ich nicht nur in Versuchen bei Kaninchen, sondern auch bei Krankenuntersuchungen, wenn ich das Serum frisch prüfte mit dem Stamme (Ty. lab.), als Regel kennen gelernt.

Als Beispiel folgt hier erstens das Protokoll eines Typhuskrankenserums, das mir von der Klinik des Prof. Pel zur Untersuchung zugesandt wurde:

Tabelle III.

Versuch am 20. April.

16 Stunden altes Krankenserum (Prof. Pel) mit lebenden Typhusbacillen.

Verdünnung	(Kontrolle)	25	50	100	250	500
1 Std. 37°	—	—	—	—	—	—
1 Std. 37°	—	—	—	+	+	(+)
1 Std. Z.-T.	—	—	(+)	++	++	(+)
3 Std. Z.-T.	—	—	(+)	++	++	(+)
20 Std. Z.-T.	—	—	++	(clar.)	(clar.)	(clar.)

Dasselbe Serum mit dem Typhusdiagnostikum nach Ficker²⁾.

1 Std. 37°	—	++	++	++	+	—
1 Std. Z.-T.	—	+++	+++	+++	+++	—
1 Std. Z.-T.	—	+++	+++	+++	+++	—
3 Std. Z.-T.	—	++++	++++	++++	+++	++
20 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	clar.	clar.	clar.

Die Reaktion mit den lebenden Bacillen 1:25 war also nach 24 Stunden noch vollständig gehemmt; am 22. April war 1:25 nach 12 Stunde +; am 25. April war die Hemmung fast vollständig beseitigt.

Mit den Fickerschen Bacillen traten dagegen gar keine Hemmungserscheinungen auf.

Als zweites Beispiel ein Typhusimmunserum von einem Kaninchen (17. April, 25. April, 4. Mai und 10. Mai mit bei 65° C abgetöteten Bacillen intraperitoneal behandelt):

1) l. c.

2) Eine größere Zahl Flaschen, von der Firma Merck bezogen und ausschließlich bei den in dieser Arbeit mitgeteilten Versuchen angewandt, trug die Nummer 43207.

Tabelle IV.
Versuch am 22. Mai.

Frisches Typhusimmunserum mit lebenden Typhusbacillen.

Verdünnung =	(Kontrolle)	25	100	500	1000	5000
1 Std. 37°	—	—	—	—	—	—
1 Std. Z.-T.	—	—	(+)	(+)	(+)	—
5 Std. Z.-T.	—	++	++	++	+	—
24 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	clar.	(clar.)	++

Dasselbe Serum mit Typhusdiagnostikum nach Ficker.

1 Std. 37°	—	+++	+++	+	—	—
1 Std. Z.-T.	—	clar.	(clar.)	++	(+)	—
24 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	(clar.)	+++	(+)

Man sieht, daß in derselben Weise, wie beim Krankenserum das Fickersche Diagnostikum die Hemmungserscheinungen, welche das frische Typhusimmunserum mit lebenden Bacillen in den stärkeren Konzentrationen aufweist, beseitigt.

Gänzlich unempfindlich für die Komplementwirkung des frischen Serums ist aber auch das Fickersche Diagnostikum nicht. Um die sehr geringen Hemmungen zu beobachten, muß man kürzere Beobachtungszeiten wählen. So fand ich z. B. nach $\frac{1}{2}$ Stunde bei 37° bei einem frischen Serum, mit Ficker geprüft, alle schwächeren Konzentrationen positiv, mit Ausnahme der Verdünnung 1:25. Nach 2 Tagen geprüft, zeigte sich jetzt auch die 25malige Verdünnung nach $\frac{1}{2}$ Stunde positiv; dann war aber 1:5 noch gehemmt.

§ 4. Komplementbindung von Bacillensuspensionen.

Aus dem Obenstehenden geht hervor, daß Agglutinationsversuche mit frischem Serum mit Ficker-Bacillen und andererseits mit seines Komplements beraubtem Serum mit lebenden Bacillen, in Bezug auf die Hemmungserscheinungen in stärkeren Konzentrationen parallel verlaufen. Es lag also auf der Hand, zu unterscheiden, wie verhalten sich die Suspensionen der lebenden und der Fickerschen Bacillen gegenüber Komplement?

Zur Beantwortung dieser Frage gab ich zu gleichen Mengen (1 ccm) der Suspensionen von lebenden Typhusbacillen (Stamm Ty. lab.) und von Ficker-Bacillen steigende Quanta frischen Kaninchenserums (0, 1, 2, 4, 6, 8 Tropfen; 1 Tr. = $\frac{1}{25}$ ccm), setzte die Röhrchen 3 Stunden bei 37° C, schüttelte dieselben dann und wann, und fügte nach 3 Stunden

Tabelle V.

Komplementbindungsversuch mit lebenden Ficker-Bacillen am 19. Juni.

Frisches Serum =	0 Tr.	1 Tr.	2 Tr.	4 Tr.	6 Tr.	8 Tr.
1 ccm lebende Bacillensusp. + $\frac{1}{4}$ ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung ¹⁾	—	—	—	—	—	—
1 ccm Ficker-Bacillensusp. + $\frac{1}{4}$ ccm 0,85-proz. NaCl-Lösung ¹⁾	—	C	C	C	C	C

1) Der hier angeführte Versuch ist ein Teil des Versuches, der in Tabelle VIII mitgeteilt ist; die physiologische Salzlösung diente zum Vergleich mit den Seren.

hämolytisches Serum und Erythrocyten hinzu (Kaninchen — Huhn). Es wurde die Reaktion am nächsten Morgen (über Nacht im Eisschrank) notiert (— ist keine Hämolyse; C = komplette Hämolyse).

Die Resultate des in Tabelle V mitgeteilten Versuches sind unzweideutig. In den Röhrchen mit lebenden Typhusbacillen (Stamm Ty. lab.) wurden bis 8 Tropfen Komplementserum gebunden; größere Quanta sind nicht versucht worden. Dagegen hatten die Ficker-Bacillen nicht in erkennbarer Weise Komplement abgelenkt; auch in Röhrchen, zu welchen nur 1 Tropfen hinzugefügt war, trat komplette Hämolyse auf.

Auf die Komplementbindung durch lebende Typhusbacillen will ich hier nicht weiter eingehen; durch Vergleich einer Reihe anderer Typhusstämmе fand ich, daß die Eigenschaft der Komplementbindung nicht bei allen Stämmen in derselben Weise und im gleichen Maße stattfindet. Ich will nur hinzufügen, daß halbstündige Erhitzung auf 65° der Fähigkeit der Bacillen, Komplement zu binden, nicht schadet, ebenso wenig wie Gefrieren; gekochte Bacillen binden aber kein Komplement. Ueber einen möglichen Zusammenhang zwischen der Fähigkeit, Komplement zu binden, und Inagglutination in stärkeren Konzentrationen, behalte ich mir ein näheres Studium vor.

§ 5. Wirkung von hochoerhitztem Typhusimmunserum auf lebende und nach Ficker geschädigte Bacillen.

Wie aus den vorigen Paragraphen und aus meiner kasuistischen Mitteilung¹⁾ hervorgeht, hat das Typhusdiagnostikum nach Ficker die bemerkenswerte Eigenschaft, zwei untereinander völlig verschiedene Arten von Hemmungserscheinungen, beobachtet bei der Agglutination von Typhusbacillen durch Tier- oder Krankenserum, zum Verschwinden zu bringen. In den obigen Versuchen handelt es sich um Hemmungen, die, wie es scheint, durch eine rasch zerlegbare, thermolabile Substanz des normalen Kaninchenserums hervorgerufen sind, in den Versuchen mit dem Krankenserum Kl. um einen thermostabilen (Immun-?)Körper. Ich wurde hierdurch veranlaßt, das Verhalten des Fickerschen Diagnostikum der dritten und am besten studierte Reihe, den künstlich hervorgerufenen Hemmungserscheinungen, gegenüber zu prüfen.

Aus den Untersuchungen von Eisenberg und Volk²⁾, welche von Wassermann u. A. bestätigt worden sind, ist es wohlbekannt, daß bei Agglutinationsversuchen, welche mit über 60° erhitzten Seren angestellt werden, Hemmungserscheinungen, am ersten in den stärksten Konzentrationen, beobachtet werden. Durch die genannten Autoren ist weiter festgestellt worden, daß auch bei den Versuchen, wo keine Agglutination beobachtet wird, die Agglutinine völlig zur Bindung gelangen. Diese Tatsachen führten zu der Annahme einer thermolabilen, fällenden Gruppe und einer thermostabilen, bindenden Gruppe im Agglutinin. Die Resultate der folgenden Versuche stehen mit dieser Vorstellung nicht im Einklang.

Der erste Versuch betrifft das Serum eines Kaninchens am 27. Mai, 3. Juni, 11. Juni, mit $\frac{1}{4}$ Agarkultur lebender Typhusbacillen intraperitoneal behandelt. Das Blut wurde am 18. Juni aus der Carotis ent-

1) l. c.

2) Eisenberg und Volk, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XL. 1902. p. 155.

3) A. Wassermann, Zeitschr. f. Hyg. u. Inf. Bd. XLII. 1903. p. 267.

nommen; Agglutinationstiter, im frischen Zustande, 2500. Am 21. Juni wurde das Serum $\frac{3}{4}$ Stunden auf 65° C im Wasserbade erhitzt und dann mit lebenden Bacillen und Fickers Suspension geprüft (Tab. VI); das nicht erhitzte Serum hatte an diesem Tage ebenfalls einen Titer von 2500; damit war zu gleicher Zeit die Bacillensuspension kontrolliert.

Tabelle VI.

Versuch am 21. Juni.

 $\frac{3}{4}$ Std. auf 65° C erhitztes Typhusimmunserum mit lebenden Typhusbacillen.

Verdünnung	(Kontrolle)	25	80	250	800	2500
$\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	—	—	—	—	—
$1\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	—	—	—	—	—
24 Std. Z.-T.	—	—	—	—	—	—

 $\frac{3}{4}$ Std. auf 65° C erhitztes Typhusimmunserum mit Fickers Diagnostikum.

$\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	+++	++	—	—	—
$1\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	clar.	clar.	clar.	(clar.)	+++
24 Std. Z.-T.	—	clar.	clar.	clar.	clar.	(clar.)

Aus der Tabelle VI geht hervor: Völlige Hemmung der Agglutination mit lebenden Typhusbacillen; gar keine Hemmung mit den Fickerschen Bacillen; mit den letzteren auch keine Spur in den stärkeren Konzentrationen; Agglutination bis zur Titergrenze.

Bei einem anderen Versuche, angestellt mit dem Serum vom 11. Juni (s. Tab. I), kamen nach Erhitzung, $\frac{1}{2}$ Stunde nur auf 63° C, auch Hemmungserscheinungen mit der Fickerschen Suspension zur Beobachtung (Tab. VII). Die Reaktion in der stärksten Konzentration blieb ganz aus.

Tabelle VII.

Versuch am 12. Juni.

 $\frac{1}{2}$ Std. auf 63° C erhitztes Typhusimmunserum.

Verdünnung	Mit lebenden Typhusbacillen			Mit Fickerschen Bacillen		
	25	80	250	25	80	250
$\frac{1}{2}$ Std. 37°	—	—	—	—	—	+
$1\frac{1}{2}$ Std. Z.-T.	—	—	—	—	++	+++
3 Std. Z.-T.	—	—	—	—	(clar.)	clar.
48 Std. Z.-T.	—	—	—	—	clar.	clar.

Soweit mir bekannt ist, sind diese Erfahrungen mit dem Fickerschen Diagnostikum den verschiedenen Hemmungen gegenüber neu; sie verdienen vom praktischen Standpunkte aus schon Interesse, für die Agglutinationslehre scheinen sie ebenfalls von Bedeutung.

Bis jetzt ist nach den Versuchen von Eisenberg und Volk von vielen Autoren, welche sich mit der Frage beschäftigt haben, angenommen, daß das Agglutinin eine thermostabile, bindende und eine labile, fällende Gruppe besitzt. Die fällende Gruppe würde durch hohe Temperaturen u. s. w. zerstört; die bindende Gruppe aber bleibt unter denselben Umständen erhalten und kann durch Besetzung der Bacillen der Wirkung eines agglutinierenden Serums vorbeugen.

Aus meinen vorläufigen¹⁾ Versuchen dagegen geht hervor, daß ein Serum, das mit lebenden Bacillen gar keine Reaktion gibt, bis zur Titer-

1) Sie betreffen nur den Stamm Ty. lab.

grenze (Tab. VI) nach Ficker geschädigte Bacillen fällen kann; daß die fallende Gruppe also gar nicht durch die hohe Temperatur beeinflußt worden ist. Man kann sich also vorstellen, daß durch die Erhitzung über 60° C im Typhusimmunserum agglutinationshemmende Substanzen auftreten, welche zu lebenden Bacillen große Affinität besitzen, größer als die Agglutinine. Diese Hemmungskörper haben nur eine geringe Affinität zu den Fickerschen Bacillen, welche zum Ausdruck kommt in einem völlig normalen Verlauf der Fickerschen Probe oder in zu den in stärkeren Konzentrationen beschränkten Hemmungserscheinungen.

§ 6. Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunseren von mit lebenden, pasteurisierten und Ficker-Bacillen behandelten Tieren und den entsprechenden Antigenen.

Die oben mitgeteilten Resultate veranlaßten mich, das Typhusdiagnostikum in verschiedener Richtung zu untersuchen.

Erstens habe ich Agglutinationsversuche angestellt mit frischen Seren von Kaninchen, welche mit Ficker-Bacillen immunisiert worden waren; dieselben hemmten aber im frischen Zustande in den größeren Konzentrationen ebenso stark wie Sera von auf andere Weise immunisierten Tieren.

Hierin liegt eine Andeutung, daß die in § 2 und § 3 untersuchten Hemmungserscheinungen nichts mit einem Immunkörper zu tun haben. Vom seitenketten-theoretischen Standpunkte ist es ja nicht denkbar, daß die Ficker-Bacillen die Bildung eines Hemmungskörpers auszulösen im stande sind, ohne für denselben eine bindende Gruppe zu besitzen. Diese Tatsache ist also eine weitere Stütze für die Annahme, daß das Komplement einen direkten, hemmenden Einfluß hat.

Zweitens habe ich mit solchen Seren Komplementablenkungsversuche gemacht. Zu diesem Versuche dienten 4 Kaninchen.

Kaninchen (le. Ty.) war am 27. Mai, 3. Juni, 11. Juni mit $\frac{1}{4}$ Agarkultur lebender Typhusbacillen intraperitoneal behandelt, Kaninchen (past. Ty.) an denselben Daten mit gleichen Mengen $\frac{1}{2}$ Stunde auf 65° erhitzter Bacillen. Kaninchen (Ficker) wurden an denselben Tagen 3 ccm Fickersche Suspension (43207) injiziert. Kaninchen (Neu) war nicht behandelt. Ihre Sera wurden aus Blut, das am 18. Juni einer der Carotiden entnommen war, durch Zentrifugieren dargestellt, und am selben Tage durch halbstündiges Erwärmen inaktiviert. Für das hämolytische System diente inaktiviertes hämolytisches Serum eines mit Hühnererythrocyten behandelten Kaninchens, gewaschene Hühnererythrocyten; für das Komplement frisches Kaninchenserum.

Es wurden Serien von 6 Röhrchen, je mit $\frac{1}{4}$ ccm eines der 4 Kaninchensera und 1 ccm einer der 3 Bacillensuspensionen (le. Ty., Past. und Ficker) dargestellt; für jedes Serum also 3 Serien von 6 Röhrchen, im ganzen also 4×3 Serien. Zu jeder der 12 Serien wurde das Komplementserum in steigenden Quanta: 0, 1, 2, 4, 6, 8 \times 0,04 ccm hinzugegeben (mittelst geaichter Tropfenpipette). Die Röhrchen wurden dann 3 Stunden im Brutschrank bei 37° gehalten und während der Zeit 3-mal geschüttelt; dann wurde das hämolytische System hinzugefügt und am folgenden Morgen das Resultat abgelesen (Tab. VIII; — = keine Hämolyse; + = inkomplette Hämolyse; C = komplette Hämolyse).

Zur Kontrolle wurde ein Versuch mit physiologischer Salzlösung (0,85-proz. NaCl) anstatt Serum gemacht.

Tabelle VIII.
Versuch am 19. Juni.

Komplementablenkungsversuch mit verschiedenen Typhusimmunsera und ihren Antigenen.

Quanta des Komplementserums 1 Tr. = 0,04 ccm Serum	0	1 Tr.	2 Tr.	4 Tr.	6 Tr.	8 Tr.
$\frac{1}{4}$ ccm Serum (le. Ty.) + 1 ccm { le. Ty.-Bac. past. Ty.-Bac. Ficker-Bac.	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	++	C	C
$\frac{1}{4}$ ccm Serum (past. Ty.) + 1 ccm { le. Ty.-Bac. past. Ty.-Bac. Ficker-Bac.	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	+	++	+++
$\frac{1}{4}$ ccm Serum (Ficker) + 1 ccm { le. Ty.-Bac. past. Ty.-Bac. Ficker-Bac.	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	(+)	+	++
$\frac{1}{4}$ ccm Serum (Neu) + 1 ccm { le. Ty.-Bac. past. Ty.-Bac. Ficker-Bac.	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	(+)	+	C	C	C
$\frac{1}{4}$ ccm physiol. Salzlösung + 1 ccm { le. Ty.-Bac. past. Ty.-Bac. Ficker-Bac.	—	—	—	—	—	—
	—	—	—	—	—	—
	—	C	C	C	C	C

Aus der Tabelle VIII ist an erster Stelle ersichtlich — und wir konnten es aus der obigen Mitteilung in § 4 schon erwarten — daß lebende Typhusbacillen, und auch pasteurisierte Bacillen (von dem von mir benutzten Stamme Ty. lab.) sich für Komplementversuche nicht eignen; wenigstens nicht bei Anwendung mäßiger Mengen Komplement.

Zweitens geht hervor, daß das Fickersche Diagnostikum, welches für sich (s. Versuch mit physiol. Salzlösung) kein oder sehr wenig Komplement bindet, bei Anwesenheit von Ambozeptoren im stande ist, Komplement abzulenken; dieses Präparat ist also als ein vorzügliches Diagnostikum bei Komplementablenkungsversuchen zu betrachten.

Drittens gibt es keinen deutlichen Unterschied zwischen dem Ambozeptorgehalt der 3 Typhusimmunsera; daß auch die Immunisierung mit Fickerschen Bacillen das Auftreten von Ambozeptoren verursacht, steht mit ihrer Eigenschaft, Ambozeptoren zu binden, im Einklang.

Viertens fällt der Unterschied auf zwischen dem Verhalten des neuen Serums und der Kochsalzlösung; die Deutung, daß das Fickersche Diagnostikum Ambozeptoren im normalen Serum nachzuweisen im stande ist, scheint mir die einfachste.

§ 7. Ergebnisse.

So kurz wie möglich möchte ich die Ergebnisse dieser Versuche zusammenfassen. Ihre praktische Bedeutung scheint mir in ihrem Beitrag zur Kenntnis des Typhusdiagnostikums zu liegen. Es ist jetzt festgestellt, daß verschiedenartige Hemmungserscheinungen (welche von Komplementen, Immunkörpern [kasuist. Mitt.] und durch Erhitzung hervorgerufenen Hemmungskörpern veranlaßt werden) durch Benutzung des

Typhusdiagnostikums vermieden werden können. Es ist wahrscheinlich gemacht, daß die Eigenschaft des Diagnostikums in einer Schädigung des Rezeptorenapparates der für die Anfertigung des Präparates benutzten Bacillen beruht. Sicherheit könnte natürlich nur erlangt werden durch vergleichende Untersuchungen mit dem Stamm oder den Stämmen, welche die Firma Merck für die Darstellung des Präparates benutzt.

Es ist weiter festgestellt, daß „Ficker-Sera“ Ambozeptoren enthalten, und daß Ficker-Bacillen im stande sind, Ambozeptoren zu binden; das Diagnostikum ist also bei Komplementablenkungsversuchen gewissen anderen komplementbindenden Bacillensuspensionen (z. B. Stamm Ty. lab.) vorzuziehen.

Für die Immunitätslehre haben obige Resultate, wie ich meine, ebenfalls einige Bedeutung. Im Widerspruch mit den Anschauungen von Arrhenius, scheint es mir einwandfrei festgestellt, daß bei den Agglutinationsreaktionen mit Typhusimmunseren die Hemmung in stärkeren Konzentrationen, wenigstens teilweise, von „Substanzen von entgegengesetzter Wirkung“ abhängig sein kann, und außerdem, daß verschiedenartige Substanzen im Spiele sein können.

Auf Grund meiner Versuche scheint vorläufig die Annahme einer „labilen fällenden Gruppe“ und einer „stabilen bindenden Gruppe“ im Bau der Agglutinine nicht berechtigt. Die Erfahrung mit den nach Ficker geschädigten Bacillen lehrt, daß die fällbare Gruppe auch in hemmenden Seren anwesend ist; es scheint also nur die Affinität der Hemmungskörper zu lebenden Bacillen die Hemmung der Agglutination hervorzurufen.

Schließlich führen die Ergebnisse dieser Versuche und der mehrfach erwähnten kasuistischen Mitteilung zur Unterscheidung von mindestens 3 Gruppen die Agglutination hemmender Körper:

- 1) rasch zerlegte, thermolabile Körper in frischen Seren (Komplemente),
- 2) thermostabile Immunkörper (Serum Kl.),
- 3) durch besondere Bedingungen (hohe Temperatur) hervorgerufene Körper.

Zu allen diesen Hemmungskörpern hat das Typhusdiagnostikum nach Ficker nur eine sehr geringe Affinität.

Nachdruck verboten.

Ueber den Wert von Malachitgrünnährböden zur Differenzierung von Typhus- und Colonbacillen. Beschreibung einer neuen Methode zur Isolierung von Typhusbacillen aus dem Stuhl.

[Aus dem Laboratorium für klinische Pathologie (Leiter: Prof. R. Fitz)
Harvard University.]

Von F. Peabody und J. Pratt, Boston.

Die Kulturmethode zur Differenzierung des Typhusbacillus von den anderen Bakterien, in deren Gemeinschaft wir ihn im Stuhl, in Erde und Wasser vorfinden, lassen sich in zwei Hauptgruppen einteilen. Die Methoden der ersten Gruppe zielen darauf hin, eine in Form oder Farbe

charakteristische Typhuskultur zu erzeugen; das Prinzip der Methoden der zweiten Gruppe dagegen ist die Begünstigung des Wachstums der Typhus- und die Inhibierung aller anderen Organismen, besonders des *Bacterium coli*.

Der ausgezeichnete Drigalski-Conradische (1) Nährboden, der in den vergangenen vier Jahren viel verwandt wurde, erlaubt scharfe und schnelle Differenzierung der Typhus- sowohl wie Colonbacillen, da auf diesem Nährboden beide Mikroorganismen Kolonien von verschiedener Größe und Farbe erzeugen; indessen verhindert er nicht das Wachstum des Colonbacillus. In dieselbe Klasse, wie der Nährboden von Drigalski-Conradi (1) gehören die von Endo (2) und Hiss (3) angegebenen. Bei diesen beiden Nährböden hängt die Differenzierung der Typhus- und Colonkolonien von Variationen in Farbe und Form ab.

Der ideale Nährboden zur Isolierung von Typhusbacillen im Stuhl würde der sein, auf dem eine Entwicklung aller anderen Bacillen ausgeschlossen wäre. Roth (4) glaubte im Caffein eine Substanz gefunden zu haben, die das Wachstum des *Bacterium coli* hintanhalten könnte ohne das der Typhusbacillen zu beeinträchtigen. Ficker und Hoffmann (5) erhielten positive Resultate in allen 11 Fällen von typhösem Stuhl, die sie unter Benutzung von Caffein untersuchten. Die Erfahrung anderer Beobachter indessen deutet darauf hin, daß die Caffeinmethode von begrenztem Werte ist und gewichtige Einwände sind gegen sie erhoben worden.

Im Jahre 1903 demonstrierte Löffler (6) vor dem ärztlichen Verein in Greifswald als erster die Bedeutung der Malachitgrünkulturnährböden. Er zeigte, daß die Hinzufügung einer bestimmten Menge dieses Farbstoffes zu gewöhnlichem Agar das Wachstum der Typhusbacillen begünstigte, die Entwicklung des *Bacterium coli* dagegen und vieler anderer Darmbakterien verhinderte.

In demselben Jahre bestätigten Lentz und Tietz (7) die Beobachtungen Löfflers über die Verwendbarkeit des Malachitgrüns, und gaben eine Methode an, die darin bestand, daß sie zunächst die Typhusbacillen auf einem Malachitgrünnährboden (8) wachsen ließen und dann dieselben auf Drigalski-Conradische Platten übertrugen, wo die Differenzierung leichter ist.

Klinger (8) verglich die Drigalski-Conradische (1), die Endosche (2), die Caffein- und die Malachitgrünmethoden an 43 Stühlen.

Drigalski-Conradis (1) Litmusplatten	positiv 13mal
Endos (2) Fuchsin	" 16 "
Ficker und Hoffmanns Caffeinmethode	" 20 "
Lentz und Tietz' (7) Malachitgrünmethode	" 26 "

Diese Untersuchungen Klingers (8) sowie jene von Lentz und Tietz (9), in ihrer zweiten Arbeit, schließlich die jüngsten Forschungen Löfflers (10) scheinen darauf hinzuweisen, daß die Einführung von Malachitgrün einen großen Fortschritt in der Technik der Isolierung von Typhus- und Paratyphusbacillen aus dem Stuhl bedeutet.

Daß viele Bakteriologen mit Malachitgrünnährböden erfolglos gearbeitet haben, unterliegt keinem Zweifel. Darauf deuten mehrere erschienene Veröffentlichungen hin. Leuchs (11) sagt in einer, August 1906 veröffentlichten Arbeit: „Wie viele Untersucher nach derartigen Erfahrungen das Malachitgrün beiseite setzten, entzieht sich unserer Kenntnis.“ Während wir über diesem Gegenstand arbeiteten, erschien eine Arbeit von Kiralyfi (12). Er erzielte höchst unbefriedigende Resultate und

kam auf Grund von zahlreichen Kontrollversuchen zu dem Schluß, daß Malachitgrün für die Differenzierung von Typhus- und Colonbacillus wenig oder gar keinen Wert hätte. Löfflers (10) zweite Mitteilung (1906) enthielt eingehende Angaben über die Zubereitung verschiedener Malachitgrünnährböden. Er empfahl insbesondere eine Rindfleischbouillon-Pepton-Gelatine mit Zusatz gewisser Mengen von Phosphorsäure und von Malachitgrün 120. Kiralyfi (12) jedoch erzielte weder Wachstum von Typhusbacillen noch von *Bacterium coli* auf derartigen Nährböden obwohl er bei ihrer Zubereitung genau der Vorschrift Löfflers folgte.

Unsere Untersuchungen haben uns zu der Ueberzeugung gebracht, daß nicht allein Unterschiede in der Stärke der verschiedenen Malachitgrün 120 Sorten, sondern auch Differenzen in der Reaktion der Nährböden, auf die verschiedenen Farbstoffe für jene Mißerfolge verantwortlich sind. Aus den Arbeiten Löfflers (10) und Kiralyfis (12) geht klar hervor, daß diese Autoren mit der Tatsache nicht vertraut waren, daß geringfügige Aenderungen der Acidität des Nährbodens die Ergebnisse in hohem Grade beeinträchtigen.

Löffler (10) fand, daß zwei Sorten von Malachitgrün sich in Stärke bedeutend unterschieden. Der von ihm benutzte Farbstoff war Malachitgrün 120 aus den Höchster Farbwerken. Die Fabrikanten teilten ihm mit, daß das chemische Präparat, welches unter diesem Namen sich im Handel befinde, Malachitgrün und Dextrin enthielte. Löffler fand, daß eine neue Sorte von Malachitgrün 120 ein wenig stärker als das alte Präparat war, welches er in seinen früheren Experimenten benutzt hatte. Die Hinzufügung von 5,0 ccm einer 2-proz. Lösung der neuen Sorte von Malachitgrün 120 zu 100 ccm Agar hielt das Wachstum der Typhusbacillen ein wenig zurück, so daß eine kleinere Anzahl von Kolonien auf den Platten wuchs, als wenn eine gleiche Menge des alten Präparats Malachitgrün 120 verwendet wurde.

Unsere Erfahrung hat uns belehrt, daß verschiedene Sorten von Malachitgrün 120 in Stärke und auch in anderen Eigenschaften sich wesentlich voneinander unterscheiden. Diese Tatsache kam uns erst zum Bewußtsein, nachdem wir uns lange bemüht hatten, die Ursache unserer Unfähigkeit, Löfflers (10) Befunde zu bestätigen, zu ergründen.

Wir arbeiteten mit drei Proben von Malachitgrün 120. Eins erhielten wir direkt von den Höchster Farbwerken; die anderen beiden wurden uns von zwei amerikanischen Importfirmen geliefert, trugen aber die Aufschrift „Malachitgrün 120 (Höchst)“. Der Bequemlichkeit halber wollen wir das von den Höchster Farbwerken direkt erhaltene Präparat mit X, das durch Eimer und Amend besorgte mit Y und das von Leitz gelieferte mit Z bezeichnen. Schon vom Augenschein war es klar, daß es sich um drei verschiedene Pulver handelte. Denn X war purpurfarben, während Y und Z dunkelgrüne Farbe aufwiesen. Von jedem Präparat wurde eine 1- oder 2-proz. wässrige Lösung hergestellt; die Lösungen Y und Z ähnelten einander stark, während X eine bedeutend heller gefärbte Lösung ergab.

Aus Rindfleischwasser dargestelltem Agar wurden verschiedene Mengen einer 1-proz. wässrigen Lösung einem der drei Präparate Malachitgrün 120 zugesetzt. So wurde eine Serie Malachitgrün-Peptonagars hergestellt, die sich nur durch den verschiedenen Gehalt an Malachitgrün voneinander unterschieden. Von jedem dieser Nährböden wurden zwei Petri-Schalen zubereitet. Eine derselben wurde mit einem Tropfen einer 24-stündigen

Typhusbouillonkultur, die andere mit einem Tropfen einer gleichartigen Colonkultur beschickt. Einige Voruntersuchungen zeigten, daß, während Y und Z in derselben Stärke gleich wirkten, X viel schwächer war. Mit Z und Y wurden die besten Resultate erzielt bei Verwendung von 0,5 ccm (annähernd 1:20000) resp. von 1,0 ccm (annähernd 1:10000) einer 1,0-proz. Lösung auf 100 ccm Agar. Enthielt der Agar 2,0 ccm (1:5000) derselben Lösung, so wuchsen weder Typhusbacillen noch *Bacterium coli*. Bei Verwendung von Präparat X hingegen wuchsen beide Mikroorganismen, wenn weniger als 10 ccm (1:1000) einer 1-proz. Lösung zu 100 ccm Agar hinzugefügt wurden; 15 ccm (1:667) andererseits verhinderte das Wachstum beider. Wir wählten als die Optimum-Konzentration bei X 1:1000, bei Y 1:10000 und bei Z 1:20000. Eine derartige Zusammensetzung bewirkte ein üppiges Wachstum der Typhuskolonien und hemmte vollständig die Entwicklung des *Bacterium coli*.

Das von Löffler (10) verwandte Malachitgrün 120 übte seine selektive Wirkung in Konzentrationen von 1:1000 bis 1:4000 aus. Klinger (8) fand, daß eine Lösung von 1:2000 die besten Resultate ergab. Lentz und Tietz (9) geben 1:750, Jorns (13) 1:2500, Kayser (14) 1:750, Hertel (15) 1:750 an.

Lentz und Tietz (9) empfehlen Malachitgrün 1, welches ein reines Präparat sein soll, in einer Lösung von 1:6000. Die damit von den beiden Autoren angestellten Versuche waren erfolgreich. Leuchs (11), der mit einer anderen Sorte von Malachitgrün 1 arbeitete, fand, daß die Nährböden, welche 1:6000 Lösungen dieses Farbstoffes enthielten, steril blieben. Lentz und Tietz (9) hatten, wie oben erwähnt, diese Zusammensetzung empfohlen. Leuchs (11) erhielt erst mit einer Lösung von 1:13000 zufriedenstellende Resultate. Aus dem gesagten geht hervor, daß Malachitgrün 1 kein gleichwertiges Produkt darstellt; es ist auch kein reines Präparat, da in ihm ebenso wie in Malachitgrün 120 Dextrin nachgewiesen werden konnte.

Malachitgrün ist ein saurer Farbstoff, und da die Reaktion des Nährbodens wichtig ist, schien es ratsam, zu bestimmen, ob die drei Proben des Farbstoffes in ihrer Reaktion sich unterschieden. Zu diesem Zweck titrierten wir dieselben mit n/20 Natronlauge. Beim Neutralisieren bildet sich ein Leukokörper und die Lösung wird farblos. Die Titrierung wurde langsam ausgeführt unter Erhitzung der Lösung, und nach jedem Hinzutropfen von Alkali blieb die Lösung mindestens 15 Minuten stehen. Bei dieser Titrierung ergab sich die Acidität der einzelnen Präparate, wie folgt.

Um 100 ccm einer 1-proz. Lösung der Farbstoffe gegen Phenolphthalein zu neutralisieren, waren folgende Mengen n/1 Natronlauge erforderlich:

$$\begin{array}{l} X = 0,2 \text{ ccm} \\ Y = 1,15 \text{ „} \\ Z = 1,0 \text{ „} \end{array}$$

Dies zeigt deutlich die Unterschiede, die in den einzelnen Präparaten desselben Farbstoffes vorhanden sind. Beachtenswert ist, daß die stärkeren Präparate die saureren sind.

Wir unternahmen eine Reihe von Untersuchungen, um festzustellen, wie jedes der einzelnen Präparate, die an sich schon verschieden reagierten, sich verhalten würden, wenn sie zu Agarnährböden von verschiedener Reaktion hinzugefügt wurden. In jedem Falle wurde der Optimumgehalt einer 1,0-proz. Malachitgrünlösung verwandt.

Tabelle I.

Malachitgrün 120, Präparat X, 1-proz. wässrige Lösung. Konzentration 1:1000; 18 Stunden alte Kultur.

Agar 1,0-proz. ¹⁾	Säuregehalt	Typhus = +
		Colon = 0
" 0,5 "	" "	Typhus = +
		Colon = 0
" 0,1 "	" "	Typhus = +
		Colon = +
" 0,3 "	Alkaligehalt	Typhus = +
		Colon = +

Tabelle II.

Malachitgrün 120, Präparat Y, 1,0-proz. wässrige Lösung. 18 Stunden alte Kultur.					
Agar 1,0-proz.	Säuregehalt	1 : 20000	Typhus = 0	1 : 10000	Typhus = 0
			Colon = 0	Malachitgrün	Colon = 0
" 0,5 "	" "	" "	Typhus = +	" "	Typhus = +
			Colon = 0		Colon = 0
" 0,1 "	" "	" "	Typhus = ++	" "	Typhus = ++
			Colon = ++		Colon = ++
" 0,3 "	Alkaligehalt				Typhus = 200 Kol
					Colon = 50 "

Agar 1,0-proz.	Säuregehalt	1 : 5000	Typhus 0
		Malachitgrün	Colon 0
" 0,5 "	" "	" "	Typhus 0
			Colon 0
" 0,1 "	" "	" "	Typhus ++
			Colon +

Tabelle III.

Malachitgrün 120, Präparat Z, 1,0-proz. Lösung. 18 Stunden alte Kultur.					
Agar 1,0-proz.	Säuregehalt	1 : 20000	Typhus = 0	1 : 10000	Typhus = 0
		Malachitgrün	Colon = 0	Malachitgrün	Colon = 0
" 0,5 "	" "	" "	Typhus = ++	" "	Typhus = +
			Colon = 0		Colon = 0
" 0,1 "	" "	" "	Typhus = ++	" "	Typhus = ++
			Colon = 60 Kol		Colon = 250 Kol
" 3,0 "	Alkaligehalt	" "	Typhus = ++	" "	Typhus = ++
			Colon = ++		Colon = ++

+ = Wachstum.

++ = profuses Wachstum.

Aus diesen Tabellen geht klar hervor, daß X, das am wenigsten saure Präparat, sich am besten bewährt hat. Zufriedenstellende Resultate wurden von Nährböden gegeben, die in ihrer Acidität zwischen 0,1 Proz. und 1,0 Proz. rangieren. Die beiden anderen Präparate verhinderten vollkommen das Wachstum beider Mikroorganismen auf einem Agar von 1,0-proz. Acidität, und ergaben gute Resultate auf einem Agar von 0,5-proz. Säuregehalt. Wenn der Agar mehr alkalisch gemacht wird, so verlieren alle 3 Sorten an inhibierender Wirkung und beide Mikroorganismen wachsen profus. Die Stärke des Malachitgrüns steht scheinbar in direkter Beziehung zu der Acidität des Farbstoffes, und es scheint, daß, je saurer der Farbstoff ist, desto feiner die Reaktion des Agars reguliert werden muß, um einen guten Nährboden zu erzielen. Präparat X, die schwächste Sorte, enthält wahrscheinlich am meisten Dextrin. Diese Befunde scheinen die Beobachtungen Leuchs' (11) zu bestätigen, daß, innerhalb gewisser Grenzen, je mehr Dextrin zugegen ist, je weniger Sorgfalt muß man auf die Reaktion verwenden.

1) 1 ccm n/1 NaOH zur Neutralisierung von 100 ccm Agar gegen Phenolphthalein erforderlich.

Zu Beginn unserer Untersuchungen erhielten wir ebenso wie Kiralyfi (12) vielfach scheinbar widersprechende und daher sehr irreführende Resultate. Bei einigen unserer Versuche wuchsen, selbst wenn Malachitgrün in bedeutender Stärke hinzugefügt wurde, Colonkolonien auf den Platten, allerdings in geringerer Zahl als die Typhuskolonien. Bei vermehrter Hinzufügung von Malachitgrün kam es eher zu einem gesteigerten als verminderten Wachstum von *Bacterium coli*. Die oben angeführte Tabelle III stellt diese Verhältnisse klar. Wenn Präparat Z zu Agar im Verhältnis 1:20000 hinzugefügt, und die Reaktion des Nährbodens auf 0,5-proz. Säuregehalt festgelegt wurde, fand ein ausgiebiges Wachstum der Typhusbacillen statt, während andererseits die Entwicklung von *Bacterium coli* vollkommen inhibiert wurde. Wenn die Acidität des Nährbodens auf 0,1 Proz. vermindert wurde, wuchsen 60 Kolonien auf der Platte. Wurde die Malachitgrünmenge verdoppelt, ohne daß die Reaktion verändert wurde, so erhielten wir einen Nährboden, auf dem 4mal soviel Colonkolonien wuchsen. Wir haben allen Grund zu folgender Annahme: Vermehrung der Acidität und gleichzeitige Verstärkung der Konzentration des Malachitgrüns über das Optimum des betreffenden Präparates ergeben Nährböden, auf denen sich Typhus- und Colonbacillen entwickeln¹⁾.

Diese Beobachtungen zeigen die Wichtigkeit, die der sorgfältigen Anpassung der Konzentration des Farbstoffes an die Reaktion des Nährbodens zukommt. Mit einem reinen Peptonagar liegt die Optimumreaktion aller drei Präparate unzweifelhaft bei 0,5-proz. Acidität. Versuche mit Peptonnutroseagar zeigten, daß 1,0-proz. Nutrose eine vorteilhafte Beimischung bedeutet; denn wenn eines der drei Präparate von Malachitgrün in der Optimummenge zu Peptonnutroseagar von 1,0-proz. Acidität hinzugefügt wurde, fand ein profuses Wachstum von Typhusbacillen statt, während ohne Nutrose bei dieser Acidität auf Nährboden, die Y und Z enthielten, keine Entwicklung stattfand. Mit einem 1,0-proz. sauren Peptonnutroseagar wurden ebenso gute Resultate wie mit einem 0,5-proz. sauren Peptonagar erhalten. Daraus geht hervor, daß Hinzufügung von Nutrose die Brauchbarkeit der saureren Präparate Y und Z erhöht.

Mehrere Autoren erwogen die Frage der Entfärbung der Nährböden durch das Wachstum der Organismen. Löffler (6) behauptet, daß dieser Faktor bei der Unterscheidung der Typhuskolonien von Wichtigkeit ist. Es muß indessen bemerkt werden, daß Entfärbung auch ohne Wachstum bei Platten stattfinden kann, auf welchen keine Impfungen gemacht worden sind. In derartigen Fällen rührt es von einer chemischen Veränderung her, bei welcher sich der Leukokörper durch Neutralisierung aus dem Malachitgrün bildet. Die folgende Tabelle läßt das erkennen. Das Malachitgrün wurde dem Agar beigelegt und die Platten 18 Stunden beiseite gestellt und dann geprüft.

Tabelle III.

Agar	1,0-proz. Säuregehalt	0,2 ccm einer	1,0-proz. Lösung	Präparat	Y keine	Entfärbung		
"	0,5	"	0,2	"	1,0	"	Y leichte	"
"	0,1	"	0,2	"	1,0	"	Y vollkommene	"
"	0,1	"	0,5	"	1,0	"	Y vollkommene	"

Wir versuchten einen verbesserten Nährboden herzustellen, der die guten Eigenschaften des Malachitgrünnährbodens und des Drigalski-

1) Diese Ansicht stützt sich auf eigene Untersuchungen; siehe auch Tafel I in Klingers Monographie.

Conradi-Agars verbinden würde; ein derartiger Nährboden hätte den Vorteil, daß er die Entwicklung von *Bacterium coli* verhindern und die von Typhusbacillen befördern würde, und zwar letztere in charakteristischer, von nichtpathogenen Bakterien unterscheidbarer Weise¹⁾. An Stelle des Kristallviolett des Drigalski-Conradischen Agars benutzten wir Malachitgrün. Wir versuchten verschiedene Konzentrationen der Farbstoffe und ebenso verschiedene Reaktionen; es konnte indessen kein Nährboden gefunden werden, auf dem Typhusbacillen so sicher Kolonien bilden, als auf dem Drigalski-Conradischen Nährboden.

Eine neue Methode zur Isolierung der Typhusbacillen im Stuhl.

Löfflers (6) Behauptung, daß auf seinem Malachitgrünagar Typhuskolonien in charakteristischer Weise erkannt werden können, konnte von Long und Pratt auf Grund ihrer im hiesigen Laboratorium ausgeführten Arbeiten nicht bestätigt werden. Diese Autoren fanden in mehreren Stühlen andere Mikroorganismen, deren Kolonien sich von denen des Typhusbacillus nicht unterschieden; daher halten sie Löfflers Methode für weniger brauchbar als die von Lentz und Tietz (7) angegebene.

Klinger (8) behauptet im ersten Teil seiner Arbeit, daß er mit der Methode von Lentz und Tietz (7) bessere Resultate als mit irgend einer anderen erzielen konnte.

Die Entdecker dieser Methode demonstrierten den Typhusbacillus auf diese Weise in dem Stuhl von 150 (73,2 Proz.) Patienten, bei einer Gesamtzahl von 205 Typhuspatienten.

Wir haben eine einfachere Methode als die von Lentz und Tietz (7) entwickelt. Wir benutzen an Stelle von Malachitgrünagar eine Malachitgrünbouillon als Vorkultur. Dieselbe kann schneller und billiger zubereitet werden als die von Lentz und Tietz (7); sie ergibt ferner, wie eine Reihe noch unveröffentlichter, von Long und Pratt angestellter Kontrollversuche bewies, in einem größeren Prozentsatz positive Resultate. In ihrer ersten Mitteilung bemerkten Lentz und Tietz (7), daß sie versuchten, einen flüssigen, Malachitgrün enthaltenden Nährboden zu benutzen, daß die Versuche aber ergebnislos verliefen, da die anderen Bakterien den Typhusbacillus überwucherten. Wir können das bestätigen für den Fall, daß die Acidität der Bouillon nur 0,1 Proz. beträgt. Mit 0,5-proz. saurer Bouillon fand ganz profuses Wachstum des Typhusbacillus statt, so daß der Nährboden stark trübe und blau verfärbt wurde²⁾.

Die mit *Bacterium coli* beschickten Röhrchen behielten ihre blaßgrüne Farbe und zeigten kein bemerkbares Wachstum. Drigalski-Conradi-Platten dagegen, aus diesen Röhrchen dargestellt, ergaben eine geringe Anzahl von Colonkolonien. Auf Bouillon von 1,0-proz. Acidität wuchsen überhaupt keine Mikroorganismen.

Die von uns bei den Untersuchungen von Faeces angewandte Methode ist folgende. Die Optimumlösung von Malachitgrün und die

1) Zur Zeit dieser Untersuchungen war es uns unbekannt, daß Reischauer (16) bereits denselben Gedanken hatte. Seine Bemühungen waren indessen fruchtlos wie die unseren.

2) Dieser Farbenreaktion kommt wenig diagnostische Bedeutung zu. Long und Pratt haben einen ähnlichen Umschlag von Grün zu tief Blau beobachtet, wenn die Malachitgrünbouillon mit einer Lösung von Faeces beschickt wurde, die keine Typhusbacillen enthielt.

Optimumreaktion für Bouillon muß zunächst für jedes Farbstoffpräparat bestimmt werden. Bei Präparat X war die verwandte Stärke 1:1000 Malachitgrün, und der Nährboden war 0,5-proz. sauer gegen Phenolphthalein. Die Bouillon wurde aus Rindfleischwasser hergestellt. Nach dem Sterilisieren wurden auf je 100 ccm noch heißer Bouillon 10 ccm einer 0,1-proz. mit sterilem Wasser hergestellten Malachitgrünlösung zugesetzt. Darauf wurde die Bouillon in Reagenzröhrchen mittlerer Größe in Portionen von 10–15 ccm verteilt.

Eine Faecesaufschwemmung wurde dadurch hergestellt, daß eine geringe Faecesmenge mit einer gleichgroßen Menge steriler normaler Salzlösung gründlich verrührt wurde. Flüssige Stühle wurden nicht verdünnt. Dann wurde zu jedem Röhrchen Malachitgrünbouillon ein Tröpfchen der Faecese Lösung hinzugegeben. Zu gleicher Zeit wurden zwei große Drigalski-Conradi-Platten (15–20 ccm im Durchmesser) beschiedt.

Nach 18–20-stündigem Wachstum im Brutofen wurden eine oder zwei große Drigalski-Conradi-Platten derartig eingimpft, daß ein Tropfen der Malachitgrünbouillonkultur über die Oberfläche des Agars mittels eines Drigalski-Conradischen Spatels oder mit dem Ende eines kleinen sterilen Reagenzröhrchens gestrichen wurde. War das Wachstum in der Bouillon profus, so wurde mit Salzlösung eine Verdünnung dargestellt und von dieser ein Tropfen benutzt.

Schlußbetrachtungen.

Als Ergebnis dieser Arbeit müssen wir die Malachitgrünnährböden hoch schätzen. Sie sind durchaus nicht ideale Nährböden, da ihre Wirkung keineswegs spezifisch ist. Wenn sie auch das Wachstum des am leichtesten mit dem Typhusbacillus zu verwechselnden Mikroorganismus, des *Bacterium coli* hemmen, so gibt es doch andere Bakterien, die darin gedeihen. Ferner hemmt, wie schon von Jorns (13) und Klinger (8) klargelegt, das Malachitgrün einigermaßen die Entwicklung des Typhusbacillus. Trotzdem ist die Entdeckung des Malachitgrüns ein Fortschritt auf dem Wege nach einem tadellosen differenzierenden Nährboden.

Es gelang uns verhältnismäßig leicht einen Nährboden darzustellen, auf dem der Typhusbacillus wächst, der Colonbacillus aber sich nicht entwickelt. Wenn auch die verschiedenen Malachitgrünpräparate in Bezug auf ihre Wirkung sich voneinander unterscheiden, so ist es doch ein einfaches Verfahren, für jedes Präparat die zu verwendende Konzentration der Lösung, sowie das Optimum der Reaktion des Nährbodens zu bestimmen.

Die Malachitgrünbouillonmethode ist nicht nur in Bezug auf Zeit und Kosten sparsamer als die von Lentz und Tietz, sondern sie hat auch im hiesigen Laboratorium bessere Resultate ergeben.

Literatur.

- 1) v. Drigalski-Conradi, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hygiene. Bd. XXXIX. 1902. p. 283.)
- 2) Endo, Ueber ein Verfahren zum Nachweis der Typhusbacillen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Originale. Bd. XXXV. p. 109.)
- 3) Hiss, New and simple media for the differentiation of the colonies of typhoid, colon, and allied bacilli. (Journal of Medical Research. Vol. VIII. 1902. p. 148.)
- 4) Roth, Versuche über die Einwirkung des Caffeins auf das *Bacterium typhi* und *coli*. (Hygienische Rundschau. Bd. XIII. 1903. p. 489.)

- 5) Ficker u. Hoffmann, Weiteres über den Nachweis von Typhusbacillen. (Archiv f. Hygiene. Bd. XLIX. 1904. p. 237.)
- 6) Löffler, Demonstration eines neuen Verfahrens zum kulturellen Nachweise der Typhusbacillen in Faeces, Wasser, Erde. (Deutsche mediz. Wochenschr. Vereinsbeilage. 1903. p. 286.)
- 7) Lentz u. Tietz, Eine Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbacillen. (Münch. mediz. Wochenschr. 1903. p. 2139.)
- 8) Klinger, Ueber neuere Methoden zum Nachweise des Typhusbacillus in den Darmentleerungen. (Arbeiten aus dem Kais. Gesundheitsamte. Bd. XXIV. 1906. p. 35.)
- 9) Lentz u. Tietz, Weitere Mitteilungen über Anreicherungsmethode für Typhus- und Paratyphusbacillen mittelst einer Vorkultur auf Malachitgrünagar. (Klinisches Jahrbuch. Bd. XIV. 1905. p. 495.)
- 10) Löffler, Der kulturelle Nachweis der Typhusbacillen in Faeces, Erde und Wasser mit Hilfe des Malachitgrüns und die Verwendung von Malachitgrünährboden zum Nachweise und zur Differentialdiagnose der Typhusbacillen und verwandter Bakterienarten. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1906. p. 289.)
- 11) Leuchs, Ueber Malachitgrünährböden zum Nachweis von Typhus- und Paratyphusbacillen. (Deutsche mediz. Wochenschr. 1906. p. 1330.)
- 12) Kiralyfi, Ueber den Wert der Malachitgrünährböden zur Differenzierung der Typhus- und Colibacillen. (Centralbl. f. Bakt. Originale. Abt. I. Bd. XLII. 1906. p. 276.)
- 13) Jorns, Ueber die Brauchbarkeit des Malachitgrünähragars zum Nachweise von Typhusbacillen. (Hyg. Rundschau. Bd. XV. 1904. p. 713.)
- 14) Kayser, zitiert bei Lentz u. Tietz, Klinisches Jahrbuch, Bd. XIV. 1905. p. 499.
- 15) Hertel, ibidem.
- 16) Reischauer, Ueber den Nachweis von Typhusbacillen in den Darmentleerungen, mit Verwendung der neueren Anreicherungsmethoden. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Bd. XXIX. 1905. p. 116.)

Nachdruck verboten.

Ueber die Immunisation gegen das Diphtherietoxin.

[Aus dem bakteriologischen Institut der medizinischen Gesellschaft zu Charkow.]

Von Dr. Nedrigailoff und Dr. Ostrjanin.

Beim Zubereiten des Diphtherieserums war es eine der wichtigsten Aufgaben, dieses Antitoxin in möglichst stark konzentriertem Zustande herzustellen, sowie den Prozentsatz der unbrauchbaren Pferde herabzusetzen.

Roux hat bereits in seiner ersten Arbeit über das Antidiphtherieserum darauf hingewiesen, daß es beim intravenösen Einspritzen des Diphtherietoxins nur sehr geringe Quantitäten des Antitoxins zu erhalten gelingt. Darum wird von ihm sowohl wie auch seitens anderer Forscher die Methode des subkutanen Einspritzens des Toxins angewendet, welche letztere im Laufe von mehreren Jahren bedeutende Aenderungen erlitten hat.

Anfangs wurde die sogenannte heroische Methode der Immunisation angewandt, wobei den Pferden eine große Quantität des Diphtherietoxins eingespritzt wurde, um eine starke lokale und allgemeine Reaktion hervorzurufen, indem man glaubte, daß, je stärker die Reaktion ist, desto stärker auch das Serum wird. Diese Methode ergab jedoch negative Resultate; man bekam ein schwaches Serum und mehrere Pferde sind unter einer starken Degeneration der inneren Organe zu Grunde gegangen.

Die heroische Methode machte bald einer anderen, der sogenannten konservativen Methode Platz, welche unser Charkower bakterio-

logisches Institut vorgeschlagen hat und welche seitens der Mehrzahl der russischen und einiger ausländischer Institute angenommen wurde.

Die Grundlage dieser Methode bildet die Voraussetzung, daß die gesunden und normal funktionierenden Zellen eines Organismus im stande sind, viel größere Quantitäten des Antitoxins auszuarbeiten, als die kranken oder degenerierenden Zellen.

Diese Methode besteht darin, daß den Pferden kleine Quantitäten des Diphtherietoxins unter die Haut einverleibt werden, indem die Dosen nur allmählich erhöht werden und wobei keine merkbare allgemeine oder lokale Reaktion hervorgerufen wird, da nach mehrmaligen Beobachtungen festgestellt wurde, daß die Quantität der ausgearbeiteten Antitoxine in keiner direkten Beziehung zur Quantität der eingeführten Toxine und der Stärke der Reaktion steht.

Die konservative Methode wird bei uns in folgender Weise angewendet: Das Diphtherietoxin wird in allmählich steigenden Dosen unter die Haut eingespritzt, anfangs täglich, später nach 1—2 Tagen, je nach der Größe der Dosen und der Reaktion.

Die Quantität des Toxins mittlerer Stärke ist gering, selbst auf der Höhe der Immunisation, 30—40—50 ccm. Das Toxin wird unter die Haut eingespritzt, indem immer eine neue Stelle ausgesucht wird. Es gibt 5 solcher Stellen auf jeder Seite, 3 vor dem Schulterblatt und 2 hinter diesem. Diese Stellen zeichnen sich durch die Anwesenheit einer großen Masse von lockerem Bindegewebe aus, so daß die Möglichkeit geboten wird, das Toxin tief unter die Haut einzuspritzen, ohne dabei die Muskeln zu berühren.

Die Resultate der Immunisation nach der konservativen Methode haben wir bereits in Berichten und Notizen publiziert.

Es gelingt gewöhnlich, bei einer großen Anzahl von Pferden im Laufe von 2—3 Monaten, ohne starke, allgemeine und lokale Reaktion ein sehr starkes Serum von 250—400 Immuneinheiten nach Ehrlich zu erhalten.

Im Jahre 1903 erschien im „Russischen Arzt“ No. 39 die Arbeit von Boldyrew aus der Antidiphtherie-Abteilung des Institutes für experimentelle Medizin unter dem Titel: „Ein Versuch der Immunisation des Menschen mit Diphtherietoxin und über aktive Immunisation im allgemeinen.“ Der Verfasser verfolgt in seiner Technik der Immunisation der Pferde das Prinzip der konservativen Methode und vervollkommnet diese noch mehr. Er führt das Toxin nicht an einer Stelle ein, wie dies früher üblich war, sondern an mehreren Stellen zugleich, wobei viel größere Flächen des Hautzellengewebes eingenommen werden und dadurch die lokale Reaktion noch mehr gestillt wird. Er betont, daß je größere Flächen des Hautzellengewebes bei der Immunisation ins Spiel gezogen werden, man um so schneller und stärker das Antitoxin bekommt.

Es gelang ihm, bei der Immunisation der 8 Pferde nach dieser Methode von 62 Proz. ein sehr gutes Serum zu erhalten, während von 20 Pferden, welche nach der alten Methode immunisiert worden sind, nur 35 Proz. genügend starkes Serum lieferten.

Wir entschieden uns, diese Methode des Toxineinspritzens zu prüfen und haben sie seit dem 1. Juli 1906 an alten und neuen Pferden angewendet.

Auf jeder Seite des Pferdekörpers wurden zu den 5 bereits erwähnten Stellen 3 weitere hinzugefügt: 2 nahe den Weichen und eine in gleichem Abstand vom Schulterblatt und von den Weichen. Im ganzen wurde also an 16 Stellen eingespritzt. Die Toxindose, welche für das Ein-

spritzen bestimmt war, wurde in 3—4 eingeteilt und an nicht benachbarten Stellen unter die Haut eingespritzt. Dann ruhten diese Stellen im ganzen 10—12 Tage, bis sie wiederum an die Reihe kamen. Die kleinen Toxindosen wurden mit physiologischer Kochsalzlösung verdünnt.

Folgende Tabelle zeigt die Resultate der Immunisation von 18 Pferden, welche im Jahre 1906 gekauft worden sind; die 11 ersten wurden zuerst nach unserer Methode immunisiert, dann nach der Methode Boldyrews, während die 7 letzten Pferde ausschließlich nach der Methode Boldyrews immunisiert wurden.

Tabelle I.

Nummer der Pferde	Dauer der Immunisation	Stärke des Serums	Quantität des Toxins in ccm	Zahl der Einspritzungen	Stärke des Toxins
		Zahl der Immuneinheiten in 1 ccm			0,01 ccm tötet das Meer-schweinchen (240—250 g)
218	6½ Mon.	> 250	1843	61	44 Stunden
219	2 Mon. 26 Tg.	> 250	265	33	44
220	2 „ 24 „	> 286	370	31	36 „
221	1 „ 27 „	> 250	338	23	36 „
222	5 „ 11 „	> 250 — < 400	626	42	36 „
223	3 „ 10 „	> 333	419	30	36 „
224	2 „ 24 „	> 333	599	27	36 „
225	3 „ 5 „	> 333	263	26	36 „
226	3 „ 4 „	> 333	221	25	36 „
227	2 „ 16 „	> 250 — < 333	659	27	36 „
228	3 „	> 200	431	26	36 „
229	2 Mon. 9 Tg.	400	441	26	47 Stunden
235	2 „ 10 „	333	671	28	47 „
237	4 „ 12 „	> 250	841	42	47 „
238	1 „ 27 „	> 333	153	18	47 „
239	1 „ 27 „	> 250	183	17	47 „
242	2 „ 10 „	333	825	23	47 „
243	2 „ 10 „	> 333	588	23	47 „

Aus dieser Tabelle ersieht man, in welcher Zeit und bei welcher Toxinquantität es gelingt, ein genügend starkes Serum zu erhalten. Es stellte sich heraus, daß die Methode des Toxineinführens nach Boldyrew tatsächlich sehr gute Resultate ergibt, daß diese aber keine besonderen Vorzüge im Vergleich mit der Methode hat, welche bei uns gewöhnlich gebraucht wird, da wir ebenfalls mit unserer Methode in 2—2½ Monaten ein starkes Serum erhalten. Dieser Umstand wird vielleicht dadurch erklärt, daß wir in der Regel — wie oben bereits angegeben ist — auch kleine Toxindosen einführen, selbst auf der Höhe der Immunisation und dabei immer an einer neuen Stelle.

Um dies zu beweisen, geben wir die Tabelle wieder, in welcher die Daten über die Immunisation von 11 Pferden im Jahre 1905, ausschließlich nach unserer Methode, zusammengestellt sind (s. Tabelle II).

Hätten wir bei diesen Pferden die Bestimmung der Serumstärke früher vorgenommen, wie dies absichtlich bei 7 nach der Methode Boldyrews immunisierten Pferden gemacht wurde, so wären die Resultate möglicherweise zustimmend.

Im Jahre 1907 wendeten wir die Methode des Bruchainspritzens des Diphtherietoxins bei 10 Pferden an; die erzielten Resultate führen wir in Tabelle III an.

Tabelle II.

Nummer der Pferde	Dauer der Immunisation	Stärke des Serums	Quantität des Toxins	Zahl der Einspritzungen	Stärke des Toxins	
					Dose in ccm	tötet das Meerschweinchen
206	3 Mon.	500 E.	468	41	0,005	50 Stunden
207	3	600	460	42	0,005	50
208	3 " 28 Tg.	400 "	480	40	0,01	36 "
209	2 " 20 "	250 "	493	32	0,005	50 "
210	2 " 4 "	500 "	339	31	0,005	50 "
211	2 " 19 "	400 "	187	30	0,005	50 "
212	2 " 4 "	250 "	556	29	0,01	36 "
213	2 " 4 "	333 "	266	26	0,01	36 "
214	2 " 20 "	500 "	186	28	0,01	36 "
215	2 " 20 "	333 "	488	32	0,01	36 "
216	2 " 2 "	250 "	282	28	0,01	36 "

Tabelle III.

Nummer der Pferde	Dauer der Immunisation	Stärke des Serums	Quantität des Toxins	Zahl der Einspritzungen	Stärke des Toxins
249	34 Tage	250 E.	181 ccm	15	0,01 ccm tötet das Meerschweinchen von 250 g Gewicht in 3 1/2 Tagen
49	"	> 400 "	431 "	19	
250	49 "	285 "	46 "	17	
251	34 "	> 286 "	83 "	13	
45	"	> 400 "	155 "	16	
252	34 "	> 286 "	183 "	15	
49	"	> 400 "	289 "	19	
253	34 "	> 286 "	179 "	15	
49	"	> 400 "	331 "	19	
254	46 "	> 400 "	173 "	16	
255	31 "	> 286 "	178 "	14	
46	"	> 400 "	448 "	18	
256	31 "	< 200 "	178 "	14	
46	"	286 "	378 "	18	
257	41 "	286 "	58 "	14	
258	35 "	> 400 "	149 "	13	

Nach der Stärke des Serums, der Zeit der Immunisation und der Quantität des gebrauchten Toxins zu schließen, sind sehr gute Resultate erzielt worden. Von 7 Pferden, No. 249, 251, 252, 253, 255, 256 und 258, welche im ganzen 87—183 ccm des Toxins während 31—35 Tagen erhalten haben, gaben 5 mehr als 286 Immuneinheiten in 1 ccm starken Serums; 1 mehr als 400, 1 > 250 und nur No. 256 hat < 200 gegeben. Man muß beachten, daß die Stärke eines Serums von mehr als 250 und 286 Immuneinheiten nicht bestimmt wurde. Nach 2 Wochen wurde bei diesen 7 Pferden und bei noch 3 zu gleicher Zeit immunisierten die Stärke des Serums bestimmt. 7 Pferde gaben > 400 und 3 je 286. Alle 10 Pferde haben also in 46—49 Tagen ein sehr gutes Serum geliefert. Die Details des Verlaufes der Immunisation, nämlich die Temperatursteigerung nach jedem Einspritzen, die Quantität des eingespritzten Toxins, die Intervalle zwischen den einzelnen Einspritzungen, sind aus untenstehender Tabelle IV ersichtlich, auf welcher die Daten über die Immunisation von 5 Pferden angeführt sind.

Tabelle IV.



Aus der Tabelle ersieht man, daß die Temperatur nach dem Einspritzen sich nur wenig steigerte — bis $38,4^{\circ}$ — $38,6^{\circ}$ C; nur bei 2 von 5 Pferden stieg die Temperatur höher als 39° ($39,2^{\circ}$). Das Pferd No. 250 erwies sich also als sehr empfindlich; im Laufe der Immunisation gelang es, die einzuspritzende Dose bis 10 ccm zu erhöhen, und trotzdem hat es 286 Immuneinheiten gegeben. Die Intervalle zwischen den Einspritzungen sind meistens 1—2, selten 3 Tage gewesen. Da die eingespritzte Quantität des Toxins auf 4 Stellen verteilt wurde, fehlte die lokale Reaktion entweder gänzlich oder war sehr gering bei großen Toxindosen.

Die von uns erhaltenen guten Resultate der Immunisation gegen die Diphtherie bewogen uns, Versuche zu machen, die Pferde auch gegen die Dysenterie, Streptococcus und andere Krankheitserreger zu immunisieren. Wir erhielten aufmunternde Resultate in dem Sinne, daß man viel schneller und ohne lokale Reaktion zu dem Einspritzen der großen Dosen der Kultur übergehen kann.

Auf Grund des oben Gesagten kann man folgende Schlußfolgerungen ziehen:

1) Die Immunisation der Pferde gegen das Diphtherietoxin nach unserer konservativen Methode und nach den Boldyrewschen Aende-

rungen gibt die Möglichkeit, von der Mehrzahl der Pferde in sehr kurzer Zeit eine große Quantität des Antitoxins zu erhalten.

2) Die bedeutende Temperatursteigerung und starke lokale Reaktion sind überflüssig für das Zubereiten der Antitoxine.

3) Die Quantität der Antitoxine steht in keiner direkten Abhängigkeit von der Quantität der eingespritzten Toxine.

4) Da die Immunisation durch die Venen (Roux, Dczerjgovsky) mit Diphtherietoxinen keine Antitoxinbildung ergibt, oder nur in sehr schwacher Weise, so könnte man vermuten, daß die geheimnisvollen Bildungsprozesse der Antitoxine in dem Hautzellengewebe sich vollziehen (Dczerjgovsky).

5) Es ist wünschenswert, die Bruchmethode der Antitoxineinspritzungen bei Immunisation gegen verschiedene Bakterien und Toxine anzuwenden.

Literatur.

- 1) Korschun, Ueber das Zubereiten des Antidiphtherieserums im bakteriologischen Institut der medizinischen Gesellschaft zu Charkow. (Russisches Archiv f. Pathol. 1899.) [Russisch.]
- 2) Dczerjgovsky, Zur Frage über die Entstehung des Diphtherieantitoxins bei natürlichen Bedingungen des Tierlebens und bei künstlicher Immunisation derselben. (Boltkins Krankenhauszeitung. 1902.) [Russisch.]
- 3) Korschun, Nedrigailoff und Ostrjanin, Ueber das Zubereiten des starken Antidiphtherieserums. (Russischer Arzt. 1903. No. 18.) [Russisch.]
- 4) Boldyrew, Ein Versuch der Immunisation des Menschen mit dem Diphtherietoxin und über die aktive Immunisation im allgemeinen. (Russischer Arzt. 1903. No. 39.) [Russisch.]
- 5) Amiradshibi, Nedrigailoff und Ostrjanin, Bericht über die Tätigkeit des bakteriologischen Instituts der medizinischen Gesellschaft zu Charkow für das Jahr 1906. [Russisch.]

Nachdruck verboten.

Filtrierapparat zur Gewinnung keimfreier Filtrate und insbesondere zur Erprobung verschiedener Filtersubstanzen.

[Aus dem hygienischen Institut zu Göttingen (Direktor Dr. E. v. Esmarch).]

Von **Werner Rosenthal.**

Mit 2 Figuren.

I.

Es gibt eine große Zahl Filtrierapparate für bakteriologische Zwecke, aber diese Apparate sind fast alle einer speziellen Aufgabe angepaßt und bieten Schwierigkeiten, sobald sie zu anderen gebraucht werden sollen. Der hier zu schildernde, ziemlich einfache und preiswerte Apparat soll den wechselnden Aufgaben in einem wissenschaftlichen Laboratorium besser genügen dadurch, daß er sich mit verschiedenartigen Filterkörpern bedienen läßt.

Im Laufe einer länger dauernden Untersuchung über das „filtrierbare“ submikroskopische Virus der Hühnerpest lernte Verf. die Unbequemlichkeiten kennen, die das Arbeiten mit den fertigen, ziemlich kostspieligen Filterkörpern der Berkefeld-, der Chamberland-Gesellschaft und anderer Firmen bietet. Diese hohlcylindrischen Filterkörper haben eine verhältnismäßig große Filtrationsfläche, sind aber alle dafür berechnet, mit einem Uberschuß der zu filtrierenden Flüssigkeit beschickt zu werden, da der wirksame Druckunterschied zwischen beiden

Filterflächen aufhört, sobald sie nicht ganz mit Flüssigkeit bedeckt sind. Man kann also kleine vorhandene Flüssigkeitsmengen nur zum geringen Teil filtrieren, wenn es nicht angängig ist, den Rest immer wieder zu verdünnen.

Dazu kommt die Schwierigkeit, diese Filterkörper zu reinigen und sie für einen neuen Versuch wieder ganz in den vorigen Stand zurückzusetzen. Immer neue Filterkörper zu verwenden verbietet sich aber einerseits durch den hohen Preis und andererseits dadurch, daß auch die besten Fabrikate nicht so zuverlässig gleichmäßig sind, daß man sie ohne besondere Proben in wissenschaftlichen Versuchsreihen dafür ansehen dürfte.

Endlich hatte ich mir unter anderem die Aufgabe gestellt, den Einfluß der Qualität des Materials, der Dicke und der Fläche der filtrierenden Schicht für sich zu untersuchen. Das war aber nicht möglich bei den fertigen Filtern, von denen jede Qualität nur in einer Form, die verschiedenen Qualitäten aber in ganz verschiedenen Maßen vorhanden waren. Ueberdies läßt sich die Dicke der filtrierenden Schicht meist erst durch Zerschneiden der Filterkörper genauer bestimmen.

Das alles gab den Anlaß zum Bau des neuen Apparates, den, zum Teil nach den Ratschlägen meines Vaters I. Rosenthal, der Mechaniker des physiologischen Institutes in Erlangen, R. Hennig, im Frühjahr 1905 für mich anfertigte. Nachdem ich nun wiederholt mit ihm gearbeitet und kleinere Verbesserungen angebracht habe, glaube ich ihn für mannigfaltige Verwendung im Institutsbetrieb empfehlen zu können ¹⁾.

Wie die Abbildung 1 zeigt, besteht er aus mehreren Teilen, die zusammen auf einem Brett festgeschraubt sind. In der Abbildung ist der besseren Uebersicht wegen die Luftpumpe *P*, eine einfache Radfahrradpumpe, losgeschraubt und seitlich aufgestellt. Sie ist durch einen Gummischlauch und ein Luftreifenventil verbunden mit einem Stahlrohr, das eine Windbüchse (*Wb*) und ein Manometer (*M*) trägt; die Skala des letzteren reicht von 0 bis zu 4 kg auf den Quadratcentimeter; mit den üblichen Radfahrradpumpen läßt sich noch ein etwas höherer Druck erzielen. Durch eine Ueberfangschraube ist das Stahlrohr verbunden mit einem Bleirohr, das die Verbindung mit der stählernen Filterbüchse *Fb* herstellt. Letztere, in Fig. 2 im Durchschnitt in halber natürlicher Größe gezeichnet, besteht aus folgenden Teilen: Der Unterteil *U* aus einem Trichter mit Ablaufrohr und einem cylindrischen Gefäß von 35 mm lichter Weite, und 50 mm Höhe, in das innen ein Schraubengewinde eingeschnitten ist; am Uebergang des Trichters in den Cylinder findet sich eine schmale Leiste, auf der eine herausnehmbare metallene Siebplatte *S* ruht. Diese dient als Unterlage für die Platte aus Filtermasse, in der Figur mit *Fp* bezeichnet; über die letztere kommt ein breiter und dicker Gummiring *Gr*, der nun mit dem cylindrischen Deckel *O*, dessen außen am unteren Abschnitt eingeschnittene Schraube in den Unterteil als Mutter paßt, so auf die Filterplatte aufgepreßt werden kann, daß diese durchaus luftdicht mit dem Oberteil verbunden ist. Die Oeffnung und der Ansatz des Deckels dienen zum Einfüllen der zu filtrierenden Flüssigkeit und zur Verbindung mit dem Bleirohr, die

1) Der Apparat mit je 1 Filterbüchse und Vorlage, aber ohne Filterscheiben, wird von R. Hennig, Mechaniker des physiologischen Instituts in Erlangen, zum Preise von ungefähr 65 M., weitere Filterbüchsen mit Vorlagen zu je 10 M., geliefert. Er hat in der ganzen Anordnung große Aehnlichkeit mit dem von Bechhold (Zeitschr. f. Chemie u. Industrie der Kolloide, 1907. II. Jahrg. H. 1) beschriebenen Apparat zur Kolloidfiltration. Die Beschreibung des Bechholdschen Apparates wurde erst veröffentlicht, als mein Apparat schon lange in Gebrauch war.

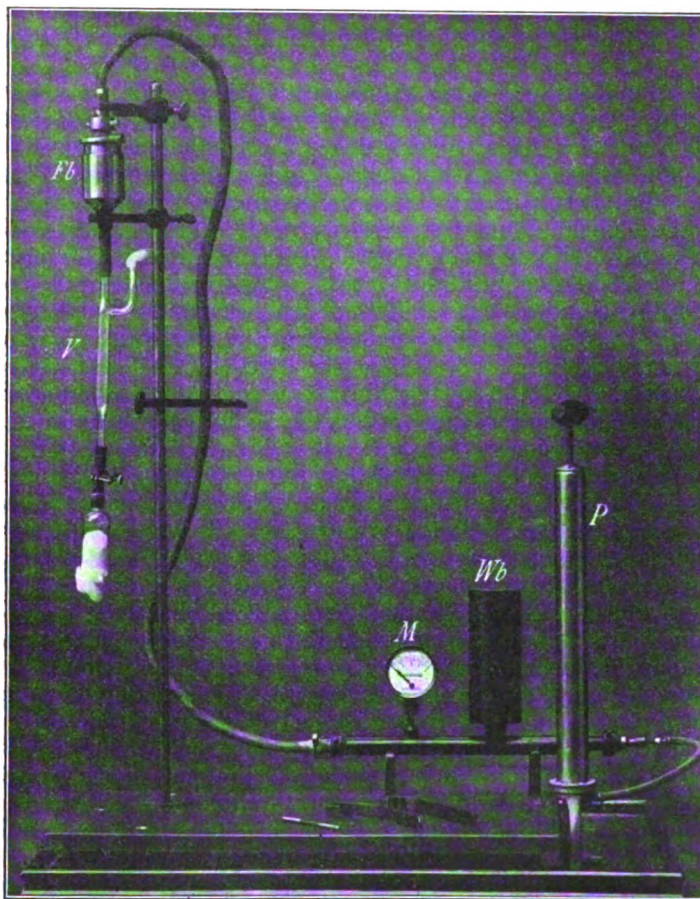


Fig. 1.

ebenfalls durch eine Ueberfangschraube erfolgt. Die beiden Bohrungen im Deckel bei *b* ermöglichen es, einen Stahlstab einzusetzen, mit dem die Schraube zwischen *O* und *U* ganz fest angezogen werden kann.

Mit der Filterbüchse ist durch einen Gummischlauch die gläserne Vorlage *V* verbunden (Fig. 1); sie ist unten mit der Vorrichtung zum Sterilabfüllen versehen und trägt im oberen Teil einen Ansatz in Form eines aufwärts gebogenen Glasrohres, damit die Luft aus ihr entweichen kann, wenn sich das Filtrat ansammelt, und wieder eintreten, wenn man dasselbe abzapft. Dieser Ansatz kann auch zur Verbindung mit einer Saugpumpe dienen, wenn man die Filterbüchse mit dieser, statt mit dem Druckapparat verwenden will, oder wenn man, um den Filtrationsdruck bis auf 5 Atmosphären zu erhöhen, zugleich drücken und saugen will. Die Vorlage ist mit einer Teilung

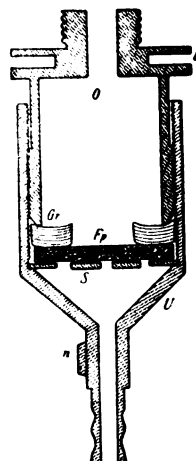


Fig. 2.

in Kubikcentimeter versehen, damit sich die Menge des Filtrates bestimmen und dieses bequem in Portionen bestimmter Größe abfüllen läßt.

Vor dem Gebrauch wird die Filterbüchse mit der zu verwendenden Filterplatte armiert und mit der Vorlage verbunden, die 3 Oeffnungen, im Deckel, an der Abfüllvorrichtung und im Seitenansatz werden mit Wattestopfen verschlossen und das Ganze im strömenden Dampf am besten wiederholt sterilisiert; trockene Sterilisation ist wegen der Gummiteile nicht möglich. Zum Gebrauch wird die Büchse mit dem Unterteil in einen gabelförmigen Halter geschoben und mit einer Schraube darin befestigt; daß sie sich in diesem nicht drehen kann, dazu dient die Nase in Fig. 2, die in einen Ausschnitt des Halters paßt. Nun wird die Verschraubung fest angezogen, die Schraubenklemme an der Abfüllvorrichtung angelegt und mit einem Trichter die Flüssigkeit eingefüllt; darauf wird die Büchse durch Verschieben des Halters am Stativ an den Bleischlauch gebracht und durch die Ueberfangschraube mit diesem verbunden.

Man muß mehrere solcher Büchsen und Vorlagegefäße besitzen, um sie zu gleicher Zeit sterilisieren und mehrere Filtrationen bald nacheinander ausführen zu können. Nach der Filtration werden die Teile auseinandergenommen und ausgekocht; ein großer Vorteil ist es, daß jeder einzelne Teil auf das gründlichste gereinigt werden kann und sie, abgesehen vom Vorlagegefäß und der Abfüllvorrichtung, unzerbrechlich sind. Man kann deshalb mit wenigen Büchsen und je nach den Zwecken wechselnden Filterscheiben sehr verschiedene Filtrationen vornehmen. Die Filterscheiben können eine Dicke zwischen 2 und 25 mm haben; wenn sie unter 4 mm dick sind, ist es freilich nötig, daß sie auf der einen, der Unterfläche, plan geschliffen seien, damit sie der Siebplatte ganz glatt aufliegen und weder beim Zuschrauben noch bei Belastung mit einem Druck von 4 kg zerspringen. Will man sehr vorsichtig sein, so kann man eine Pappfilterscheibe zwischen dem Filter und der Siebplatte einfügen; über dem Filter darf eine solche (die z. B. das Verschlämmen verzögern könnte), nicht eingefügt werden, weil sonst die Filtration statt quer durch die Filterplatte seitlich innerhalb der Pappe, zwischen dem Gummiring und der Filterplatte, von staten gehen und das Filter selbst umgehen könnte.

Ein Nachteil des Apparates ist es, daß man die zu filtrierende Flüssigkeit nicht sehen und nicht ohne weiteres nachfüllen kann. Der Apparat faßt etwa 30 ccm; in vielen Fällen wird diese Menge, da man sie bis auf den letzten Tropfen in das Filter pressen, freilich aus dicken Filtern nicht ebenso wieder herausbekommen kann, genügen. Da man die Menge des Filtrates annähernd messen kann und bald Erfahrung gewinnt, wieviel Flüssigkeit etwa ein bestimmtes Filter in sich zurückbehält, so kann man berechnen, wann die aufgefüllte Menge verschwunden ist und dann nach Oeffnen der Ueberfangschraube eine neue Portion von 30 ccm auffüllen.

Eine Vorrichtung zum Nachfüllen an dem Apparate anzubringen, wäre schwierig und nicht zweckmäßig: denn sie müßte zwei Hähne enthalten; Metallhähne, welche dauernd für 4 Atmosphären Druck dicht bleiben, sind aber ziemlich teuer. Unser Apparat ist eben deswegen, weil er keinen Hahn enthält, sehr zuverlässig abzudichten und zu mäßigem Preise herzustellen. Wenn eine sehr dichte Filterplatte und eine schwer filtrierende Flüssigkeit eingeführt werden, kann man durch

einmaliges Aufpumpen für mehr als 12 Stunden einen Druck von 4 ki auf den Quadratcentimeter in ihm erhalten, während dauernd ein wenig Flüssigkeit abgepreßt wird. Die Ueberfangschrauben sind mit Ringen aus gefettetem Leder abgedichtet; sie werden fest angezogen mit den hakenförmigen Schlüsseln, die in Fig. 1 auf dem Grundbrett liegen. Die Windbüchse ist angebracht, damit der Druck, wenn die Filterbüchse nahezu mit Flüssigkeit gefüllt ist, nicht allzu rasch mit jedem Pumpenstoß ansteige und auch, wenn die Filtration rasch vor sich geht, nicht allzu rasch wieder abfalle.

Handelt es sich einmal darum, eine größere Menge leicht filtrierender Flüssigkeit zu filtrieren, so kann man die Filterbüchsen und Filterplatten doch verwenden, wenn man auf Druck verzichtet und die Vorlage mit der Wasserstrahlsaugpumpe verbindet; dann kann man jederzeit mit einem Trichter Flüssigkeit nachfüllen.

Je nach den Umständen ist es als ein Vorteil oder Nachteil zu betrachten, daß die filtrierende Fläche verhältnismäßig klein ist; wenn man nur kleine Flüssigkeitsmengen hat oder den Rückstand sammeln will, so ist das nützlich und im letzteren Fall auch besonders die ebene Filteroberfläche. Dagegen verschlämmt unter Umständen das Filter sehr schnell; durch allmähliches Steigern des Druckes kann man dann doch die Filtration längere Zeit in Gang halten, aber die einzelnen Filtratportionen bleiben nicht gleichartig. Andererseits ist es gerade in solchen Fällen von Vorteil, daß die einzelnen Filterplatten wenig kostspielig sind und zu jedem Versuch eine neue genommen werden kann.

Wenn man Kieselguhr- (Berkefeld-) Platten verwenden will oder ähnliches Material, so bezieht man zweckmäßig aus der Fabrik die unbearbeiteten gebrannten Cylinder und läßt sich je nach Bedarf die Platten von der erforderlichen Dicke schneiden, drehen und abschleifen; das kann aus dem weichen Material in jeder Mechanikerwerkstatt geschehen, und man ist sicher, für jede Versuchsreihe ganz gleichmäßiges Material zu verwenden. Platten aus Hartporzellan dagegen müssen eigens in der Fabrik geformt und gebrannt werden; trotz der verhältnismäßig großen Kosten für die besondere Anfertigung stellt sich eine größere Zahl derselben billiger als ebensoviel Filterkerzen der bisher üblichen Formen. Ich habe sie in verschiedenen Qualitäten und Dicken aus der königlichen Porzellanmanufaktur zu Berlin und von der Chamberland-Gesellschaft zu Paris bezogen, wo die Formen noch vorhanden sind.

Die Vorlage in Form einer Abfüllbürette hat sich sehr bewährt; man kann sie je nach den zu gewinnenden und abzumessenden Filtratmengen verschieden groß wählen, am zweckmäßigsten so, daß sie die ganze aufgegebene Flüssigkeitsmenge faßt. Solche Vorlagen kann man zweckmäßigerweise auch an anderen Filtrationsapparaten statt der gebräuchlichen Druckflaschen und Kolben anbringen. Freilich muß man, wenn man mit Saugen filtriert, die Filtration unterbrechen, wenn man einzelne Portionen des Filtrates abfüllen oder zu Sterilitätsproben entnehmen will, wogegen man das auch während der Filtration mit Ueberdruck tun kann. Von den üblichen Apparaten sind die Maassenschen mit einer Hebevorrichtung und Hahn zum Sterilabfüllen versehen; aber diese Vorrichtung ist erstlich sehr zerbrechlich und wegen ihrer Dimensionen nur sehr schwer in den Sterilisierapparaten unterzubringen, und zweitens kann man, bei dem flachen Boden der verwendeten Druckkolben, mit dem Heber nur eine größere Filtratmenge und diese nicht

vollständig und endlich erst nach Beendigung der ganzen Filtration und nicht in einzelnen Proben entnehmen.

Da ich bei meinen Versuchen wiederholt sehr schwierige Filtrationen probierte, die viele Stunden erforderten, bis eine genügende Menge Filtrat gewonnen war, und außerdem eine größere Reihe solcher Filtrationen in nicht zu langem Zeitraum ausführen mußte, ließ ich mir den Apparat so abändern, daß drei Filterbüchsen zugleich angeschlossen und unter Druck gesetzt werden können. Zu diesem Zwecke wird an das Stahlrohr, das Windbüchse und Manometer trägt, ein zweites mit Ueberfangschraube angeschlossen, das drei seitliche Stutzen mit Hähnen besitzt. Jeder dieser Hähne wird dann mit einem Bleirohr verschraubt und drei Filterbüchsen an 3 Stativen zugleich angeschlossen. Mit dieser Vorrichtung können drei Filtrationen unter genau dem gleichen Druck, oder, bei Abschließen der Hähne, auch unter verschiedenem Druck gleichzeitig ausgeführt werden. Es kostet aber so viel Mühe, drei so gut eingeschliffene Hähne zu beschaffen, daß der Apparat wieder die oben genannte Dichtigkeitsprobe besteht, daß ich diese Einrichtung nur für solche Fälle empfehlen kann, in denen sie unumgänglich nötig erscheint. Der Apparat kann dabei jederzeit in den einfacheren, ohne Hahn, zurückverwandelt werden.

II.

Testbakterienmischung zur Prüfung poröser Filtersubstanzen und Nachweis der Testbakterien.

Bei den Untersuchungen über die Filtration des Hühnerpestvirus war es eine sich immer wiederholende Aufgabe, festzustellen, ob die benützten Filter denn wirklich im üblichen Sinne keimdicht seien. Im Anfange erprobte ich die einzelnen Filter vorher mit Kulturaufschwemmungen der passend erscheinenden Bakterien und sterilisierte sie dann neu für den Hauptversuch. Es erschien aber bald zweifelhaft, ob die Filter bei solcher wiederholter Benützung ihre Durchlässigkeit nicht änderten. Eine Wiederherstellung in den ursprünglichen Zustand durch Ausglühen ist bei den fertigen Berkefeld-Filtern gar nicht möglich. bei den fertigen Filtern aus Porzellanmasse auch nur mit besonderem Muffelofen herbeizuführen; die einfachen Filterplatten, wie sie in dem in der 1. Mitteilung beschriebenen Apparat verwendet werden, sind mit einfacheren Mitteln auszuglühen, aber dabei besteht die Gefahr, daß sie durch allzu hohe oder ungleichmäßige Erhitzung beschädigt, für den Hauptversuch durchlässiger werden.

Diese Schwierigkeiten umgeht man, wenn man ein im betreffenden Fall unschuldiges Testbakterium der Virusaufschwemmung selbst zusetzt, wie dies wohl Löffler und Frosch zuerst bei ihren Untersuchungen über die Maul- und Klauenseuche getan haben. Als solches Testbakterium war mir das *Spir. parvum* v. Esmarch wegen seiner großen Durchdringungsfähigkeit am wichtigsten, es bietet seinem Nachweis aber einige unten zu besprechende Schwierigkeiten. Daneben war es aber von Interesse zu untersuchen, ob die einzelnen Filter nicht auch für gröbere Bakterien durchgängig seien; nur mit einer Reihe verschieden großer Bakterien schien es möglich, in einem einzelnen Versuch zu entscheiden, ob ein gegebenes Filter im ganzen einen bestimmten Grad der Dichtigkeit oder Durchlässigkeit zeige oder ob in einer sonst dichten Masse vielleicht nur ein einziger Spalt ganz geringe Mengen

des aufgefüllten Virus und der Bakterien, diese aber ohne Unterschied ihrer Größe passieren ließe.

Im Laufe der Untersuchungen bin ich zu der folgenden Kombination von Testbakterien gelangt, die sich recht geeignet und nützlich erwies: *Bact. prodigiosum*, *Bact. pyocyaneum*, Schweinerotlauf und *Spir. parvum*, geordnet nach der Leichtigkeit ihres Durchtritts durch die Filter. Die ersten beiden wählte ich, weil sie sich leicht durch ihre Farbstoffbildung identifizieren lassen; sie lassen zwar, wenn sie in den Kulturen aus Filtrat zur Entwicklung gelangen, die beiden zarteren meist nicht aufkommen, aber das schadet nicht, da bei ihrem Nachweis die Filter sicher auch für jene durchlässig sind. Um jeder dieser 4 Arten auch optimale Bedingungen zu bieten, wurden mehrfache Kulturproben angelegt: nämlich erstens Gelatineplattengüsse, um ein Urteil über die Zahl der vorhandenen Keime zu gewinnen. Der gewöhnlichen Nährgelatine setzte ich 1 Proz. Dextrin zu, weil in dieser Dextringelatine jede kleinste *Prodigiosus*-Kolonie sich sofort rot färbt und so als solche zu erkennen ist. Die *Pyocyaneus*-Kolonien waren durch die charakteristische Struktur und Verflüssigung ebenfalls ziemlich gut zu erkennen, eine Abimpfung auf Agar ließ sie durch die Farbstoffbildung sicher identifizieren; ich wählte einen Stamm, der durch die starke Produktion blauen und später braunen Farbstoffs sehr auffallend und mit *Bact. fluorescens liquefaciens* nicht zu verwechseln ist. Schweinerotlaufkolonien wurden, wenn die Gelatineplatten nicht durch jene Bakterien bald verflüssigt wurden, nach mehreren Tagen als diffuse Trübungen ebenfalls makroskopisch sichtbar und zählbar, doch entwickeln sich vermutlich nicht alle Keime. Noch weniger ist dies bei dem *Spir. parvum* der Fall, das nur, wenn es allein und doch in großer Zahl in die Dextringelatineplatten gelangte, nach 10 Tagen und später in Gestalt von winzigen, hellen, bei schwacher Vergrößerung als annähernd kuglige, stark lichtbrechende Körner erkennbare Kolonien sichtbar wurde, die noch später die Platte auch makroskopisch merklich trübten. Zweitens wurde Filtrat in Bouillonröhrchen aufgefangen, die bei 37° oder 33° bebrütet wurden; in ihnen machte sich am raschesten *Bact. pyocyaneum* merklich, das erst Trübung, nach spätestens 40 Stunden auch charakteristische Färbung ergab. War neben ihm auch *B. prodigiosum* vorhanden, so entstand am 3. Tage etwa eine rötliche Kahlhaut oder wenigstens eine deutliche Rotfärbung in der obersten Flüssigkeitsschicht. Neben dem *Bact. pyocyaneum* ließen sich mikroskopisch in hängenden Tropfen zuweilen die Schweinerotlaufstäbchen erkennen; eine Gram-Färbung ergab dann die Bestätigung. Wenn aber *Bact. pyocyaneum* im Filtrat fehlte, so ergaben auch ganz vereinzelte Schweinerotlaufstäbchen am 2. oder 3. Tage eine farblose Trübung; das mikroskopische Bild, die charakteristischen Kulturen in Gelatine und auf Agar und die Mäuseinfektion sicherten in diesen Fällen die Identität. Die Kultur in Bouillon erwies sich empfindlicher als die direkte Impfung einer Maus mit einer gleich großen Filtratmenge.

Neben den vorgenannten Bakterien verwendete ich versuchsweise noch mehrfach einen *Staphylococcus pyogenes aureus* und *Bact. fluorescens non liquefaciens*. Jener, der in der Dextringelatine charakteristische gelbe Kolonien bildete und in der Bouillon neben den Stäbchenarten bei mikroskopischer Untersuchung hätte auffallen müssen, ließ sich nie im Filtrat nachweisen, so daß er anscheinend zu Filtrier-

versuchen nicht geeignet ist, obgleich seine Individuen wesentlich kleiner sind als *Bact. prodigiosum*. Und das *Bact. fluorescens non liquefaciens*, das eine Spur zarter und kleiner erschien als *Bact. pyocyaneum*, ließ sich nur ganz vereinzelt neben jenem nachweisen, nie in größerer Zahl oder ohne jenes, so daß ich es bald als überflüssig fortließ.

Das wichtigste, aber auch das am schwierigsten nachzuweisende der Testbakterien war *Spirillum parvum*; v. Esmarch gibt in seiner ersten Veröffentlichung an, daß es sich auf den üblichen Nährböden züchten lasse, auf den festen aber anscheinend nur, wenn es in großen Mengen übertragen werde; als besonders günstig nennt er die zur Anreicherung der Choleravibrionen dienende Lösung von 1 Proz. Pepton und $\frac{1}{2}$ Proz. Kochsalz. Ich mußte mich bald überzeugen, daß das *Spirillum parvum* viel schwieriger künstlich zu kultivieren ist, als die übrigen saprophytischen Bakterien; nicht nur die festen Nährböden, sondern auch die gewöhnliche Nährbouillon versagte öfters, wenn nicht reichliche Mengen Kulturmateriel übertragen wurden. Dagegen erwies sich das Peptonwasser als wirklich zuverlässig und als günstigste Temperatur, um wenige Keime rasch zu üppiger Entwicklung zu bringen, 33—34° (in dem für die Diphtheriediagnose eingestellten Thermostaten). Aber auch so geht die Entwicklung noch viel langsamer vor sich, als man es von anderen Bakterien, mit Ausnahme des Tuberkelbacillus, gewöhnt ist — man muß die Röhrchen mindestens 14 Tage bebrüten, ehe man aus ihrem Klarbleiben auf die Anwesenheit des *Spirillum parvum* schließen darf. In einem Kontrollversuch, durch den ich ein Urteil über die Zahl der entwicklungsfähigen Keime in einer Kulturprobe gewinnen wollte, übertrug ich stark abfallende Mengen in eine Reihe Röhrchen mit Peptonwasser; in die letzten 4 wurde je etwa $\frac{1}{100000}$ cmm übertragen: von diesen blieb eines klar, während in den drei anderen bis zum 5. Tage eine Trübung einsetzte. Da eine Kontrollimpfung zeigte, daß auch in dem klar gebliebenen sich *Spirillum parvum* entwickeln konnte, ist anzunehmen, daß in die drei anderen Röhrchen der letzten Reihe nur einige wenige Keime übertragen waren, die also bei 33° in 5 Tagen eine erkennbare Trübung hervorriefen; bei den Impfungen mit Filtrat trat aber die Trübung wiederholt erst nach dem 10. Tage auf, so daß hier entweder eine noch geringere Keimzahl eingesät sein mußte oder aber aus der filtrierten Lösung hemmende Substanzen mitübertragen waren. Solche, noch nicht genauer zu bezeichnende Stoffe zeigen für *Spirillum parvum* eine in auffallendem Maße durch die Temperatur beeinflusste Giftwirkung, wie der folgende Versuch lehrt. Er wurde in erster Linie angestellt, um die Einwirkung eines Dextrinzusatzes zu erproben, da sich mehrere Male Dextringelatine als geeigneter zur *Spirillum parvum*-Kultur erwiesen hatte, als dieselbe Gelatine ohne Dextrinzusatz.

Es wurden die Peptonkochsalzlösung, Normalbouillon (auf Lackmus schwach alkalisch reagierend) und diese beiden mit Zusatz von je 1 Proz. Dextrin miteinander verglichen; von jeder dieser Lösungen wurden 6 Röhrchen geimpft, und zwar ganz gleichmäßig je 3 mit einer großen Menge (1 kleine Oese einer jungen, eben merklich getrübten Kultur) und je 3 mit einer etwa 10000-fach kleineren (1 Normalöse aus der Verdünnung jener Oese in 10 ccm Peptonwasser). Die Proben wurden dann in die Thermostaten von 37, 33 und 21° verteilt. In den ersten beiden entwickelten sich einzig die Kulturen in reiner Peptonkochsalz-

lösung, und zwar ohne einen Unterschied für die beiden Temperaturen erkennen zu lassen, da beide ersten Verdünnungen nach 2, beide zweiten Verdünnungen nach 4 Tagen deutlich trüb waren. Alle anderen Röhrchen zeigten auch nach 22 Tagen noch keine Spur von Trübung. Dagegen trat bei 21° in allen 8 Röhrchen Entwicklung von *Spirillum parvum* ein, aber in außerordentlich verschiedenen Zeiträumen; sie wurde nämlich festgestellt bei den ersten Verdünnungen:

in Peptonkochsalzlösung nach 4 Tagen,

in Bouillon nach 7 Tagen,

in den beiden Lösungen mit Dextrinzusatz nach 22 Tagen.

In den zweiten Verdünnungen wurde sie gefunden:

im reinen Peptonwasser nach 22 Tagen (eben erkennbar),

im Dextrinpeptonwasser nach 29 Tagen (ebenso; in beiden einige Tage später ausgesprochene Trübung),

in der reinen Bouillon nach 36 Tagen und

in Dextrinbouillon erst nach 42 Tagen.

In allen Fällen bestätigte die mikroskopische Kontrolle, daß es sich um Reinkulturen von *Spirillum parvum* handelte.

Die klaren, 22 Tage bei höherer Temperatur gehaltenen Proben wurden dann noch längere Zeit bei 21° gehalten. In keiner trat Entwicklung auf; es war also in ihnen bei der höheren Temperatur die Entwicklung nicht nur gehemmt worden, sondern die Spirillen waren auch abgestorben. Diese Giftwirkung hatten sowohl Dextrin, als auch die besonderen Stoffe der Nährbouillon ausgeübt. In letzterer entwickelt sich übrigens, wie die Impfungen mit Filtraten lehrten, das *Spirillum parvum* zuweilen bei 33°, wenn auch viel seltener als in den gleicherweise geimpften Peptonwasserröhrchen.

Worauf diese Giftwirkung beruht, darüber ist zunächst noch kein Urteil möglich; der auffallende Einfluß der Temperatur legt nur die Vermutung nahe, daß vielleicht Dissoziation von Salzen, also wohl freie Ionen das eigentlich schädigende sind. Wir wissen ja auch von anderen Bakterien, daß sie ungemein empfindlich gegen geringe Aenderungen der Reaktion sind, also gegen einen kleinen Ueberschuß freier OH- oder H-Ionen. Die einfache, durchaus neutrale Peptonkochsalzlösung, die dem *Spirillum parvum* am meisten zuzusagen scheint, ist ja jedenfalls ärmer an freien Ionen, als die vielerlei Salze enthaltende Fleischbrühe. Wie verwickelt aber die Bedingungen liegen, zeigt die Erfahrung, daß der gleiche Dextrinzusatz zu Peptonwasser und Bouillon einen hemmenden, zu Gelatine einen fördernden Einfluß auszuüben scheint.

Diese Erfahrungen sind nicht unwichtig für die Art, in der die Kontrollkulturen bei Filtrationsversuchen mit *Spirillum parvum* anzustellen sind, und da dieses vermutlich künftig vielfach zur Erprobung von Filtern angewendet werden wird, die man zum Nachweis eines filterbaren Virus verwenden will, wird ihre ausführliche Mitteilung nicht überflüssig sein. Danach erscheint die Kultivierung bei Zimmertemperatur als die sicherste, weil bei dieser auch die sonst hemmenden Substanzen die Entwicklung nicht vollständig aufzuheben vermögen; ein Nachteil aber ist die außerordentlich lange Zeit, die dann verstreicht, ehe man Sicherheit über das Ergebnis des Versuches erlangt. Deshalb ist eine Kultivierung in Peptonwasser bei 33° vorzuziehen, und sie ist wohl auch genügend zuverlässig, wenn man die Filtratprobe reichlich mi

Peptonwasser verdünnt; ich habe in der Regel 1 ccm zu 10 ccm Peptonwasser fließen lassen. Nicht beweisend dafür, daß ein Filter für *Spirillum parvum* dicht ist, wäre es, wenn lediglich das Filtrat selbst, das auch Substanzen aus zugesetzten Bouillonkulturen anderer Bakterien oder der Viruslösung enthält, bei 33° klar bleiben würde. Ich selbst habe die Erfahrung gemacht, daß das Filtrat aus einer Flüssigkeit, die zum größeren Teil aus Peptonwasserkulturen von *Spirillum parvum* bestanden hatte, durchaus klar blieb, während kleinere in frisches Peptonwasser übertragene Proben *Spirillum parvum* zur Entwicklung kommen ließen.

Die Identifizierung des *Spirillum parvum*, das in den Peptonwasserproben zuerst eine zarte Trübung (ohne Kahmbaut noch Bodensatz) bildet, geschieht im hängenden Tropfen. Durch die charakteristischen Vibrionen- und Spirillenformen, die lebhaft charakteristische Eigenbewegung und seine Zartheit ist es sicher zu erkennen. Andere Vibrionen und Spirillen auszuschließen, wird kaum je erforderlich sein, da sie ja nie als Luftkeime vorkommen. Im Zweifelsfalle entscheidet die Zartheit der Individuen. Hier ist es nun freilich auffallend, daß bei dem Versuch, die Dicke des *Spirillum parvum* mit Hilfe eines Okularmikrometers zu bestimmen, kaum geringere Werte für dasselbe erhalten werden (v. Esmarch gibt 0,1–0,4 μ an, meine eigenen Bestimmungen nähern sich dem größeren dieser Werte), als sie für viele andere Bakterien (z. B. Choleravibrionen, Schweinerotlauf) angegeben werden und festzustellen sind, von denen sich *Spirillum parvum* durch sein Verhalten gegenüber den Filtern sehr wesentlich unterscheidet. Aber es ist gleichwohl unverkennbar, daß man es hier mit wesentlich feineren Gebilden zu tun hat. So sind alle anderen züchtbaren und eigenbeweglichen Bakterien im hängenden Tropfen bei passender Beleuchtung auch schon mit einer mittleren Trockenlinse deutlich zu erkennen, das *Spirillum parvum* aber erst mit einer guten Oelimmersionslinse¹⁾. Und auch mit dieser ist man an einem mäßighellen Wintertag, mittags und an einem großen Fenster, oft genötigt, künstliche Beleuchtung zu Hilfe zu nehmen, um sie deutlich zu erkennen, was bei allen anderen Vibrionen und Bakterien nicht nötig ist. Man merkt, daß man an der Grenze des noch deutlich Sichtbaren steht. Im gefärbten Trockenpräparat ist der Nachweis des *Spirillum parvum* noch schwieriger als im hängenden Tropfen — aber das gilt auch für andere Vibrionen; da hier die Gestalt viel weniger ausgeprägt ist, ist diese Untersuchungsmethode nicht zu empfehlen. Jedenfalls ist für den Beobachter, der *Spirillum parvum* wiederholt untersucht hat, der Unterschied seiner Erscheinung von anderen Vibrionen und Spirillen so deutlich, daß er es nicht verwechseln wird.

Daß die erhobenen Maße so verhältnismäßig groß ausfallen, ist vermutlich so zu erklären, daß hier an der Grenze des mikroskopisch Abbildbaren scharfe Bilder im strengsten Sinne des Wortes überhaupt nicht mehr zu erhalten sind. Daß das *Spirillum parvum*, das vermutlich mit seinem Querdurchmesser jenseits dieser Grenze liegt²⁾, doch noch

1) Mit der vortrefflichen Trockenlinse Zeiss Apochromat 4 mm gelingt es bei bester künstlicher Beleuchtung nur eben mühsam die beweglichen Vibrionen von *Spirillum parvum* zu erkennen.

2) Dieser Grenzwert ist für Licht verschiedener Wellenlänge verschieden und daher für gemischtes, weißes Licht nicht scharf anzugeben (zwischen 0,4 und 0,2 μ).

deutlich zu erkennen ist, beruht darauf, daß wie Maxwell gezeigt hat, Körper, die nur in einer Dimension beträchtlich jenen Wert überschreiten, durch Beugung sichtbar sind, auch wenn sie in den anderen Dimensionen beträchtlich unter diesem Grenzwert bleiben, und vermutlich auch darauf, daß das *Spirillum parvum* sehr stark lichtbrechend ist und daher an seiner so stark gekrümmten Oberfläche eine sehr kräftige Beugung statthat: das, was wir sehen und messen können, wäre also immer ein Beugungsbild und die wirkliche Dickendimension bedeutend kleiner. (Bei anderen Bakterien muß unter gleichen Bedingungen auch eine Verbreiterung des mikroskopischen Bildes zu stande kommen, die aber zu einer relativ viel geringeren Ueberschätzung Anlaß gibt.)

So ist der Nachweis der 4 Bakterienarten in den Filtraten sicher und ohne viel Mühe derart zu führen, daß keinesfalls die größte der durchgetretenen Bakterienarten übersehen werden kann. Die gleichzeitige Beschickung von 3 Kulturmedien mit Proben erhöht die Sicherheit. Zufällige Infektionen der Proben aber sind sehr störend, da sie langwierige Kontrollkulturen notwendig machen und insbesondere *Spirillum parvum* und auch Schweinerotlauf durch sie unterdrückt und so das Ergebnis gefälscht werden kann.

Ich habe deshalb statt der sonst üblichen dickwandigen Flaschen, Kolben und Reagenzröhrchen zum Auffangen des Filtrates die in der ersten Mitteilung beschriebenen Vorlagen in Bürettenform mit Abfüllvorrichtung benützt, die in Verbindung mit den Filtern im strömenden Dampf sterilisiert wurden. Aus ihnen kann man schon zu Beginn der Filtration Proben von bestimmter Menge ohne jede Gefahr der Luftinfektion entnehmen. Am zweckmäßigsten fand ich es, wenn die Menge des Filtrates nicht allzu gering war, sowohl bei Beginn als bei Schluß der Filtration je dreimal 1 ccm in den 3 angegebenen Nährböden aufzufangen. Nur ganz selten wurde die Beurteilung des Ergebnisses gestört durch Entwicklung von Bakterien in den Proben, die sich nicht mit den eingesäten Testbakterien identifizieren ließen. Es handelte sich dann immer um Sporenbildner, so daß augenscheinlich nicht eine Infektion bei der Probeentnahme, sondern eine ungenügende Sterilisation der Filtriergefäße und Vorlagen anzuschuldigen ist. Deshalb ist eine wiederholte fraktionierte Sterilisation derselben anzuraten, die ich aus äußeren Gründen nicht regelmäßig vorgenommen hatte.

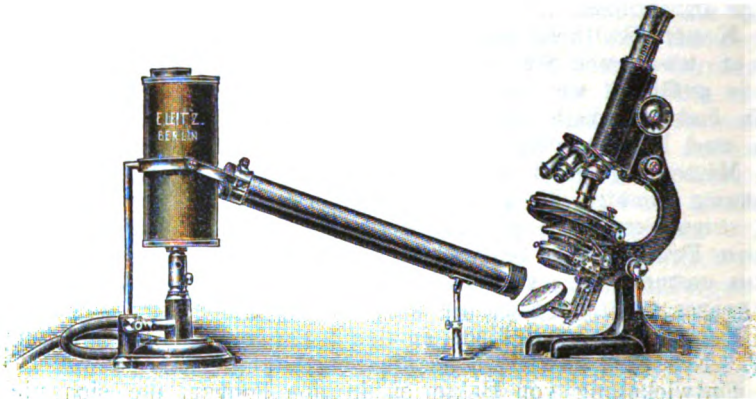
Nachdruck verboten.

Eine neue Mikroskopierlampe.

Von C. Troester, Oberstabsveterinär.

Mit 1 Figur.

Immer mehr sind die Mikroskopiker im Laufe der Zeit genötigt worden, sich starker und selbst stärkster Vergrößerungen zu bedienen, und in demselben Maße haben sich auch die Ansprüche an die Beleuchtung gesteigert. Das natürliche Tageslicht ist in unseren Breiten im Sommer noch gerade ausreichend, in den anderen Jahreszeiten aber durchaus ungenügend, daher sehen wir denn auch, daß viele Mikroskopiker ohne Rücksicht auf Tageszeit und Bewölkung ausschließlich künstliches Licht benutzen.



Nun gibt es eine ganze Anzahl brauchbarer Mikroskopierlampen, und ich würde gar nicht daran gedacht haben, eine neue zu konstruieren, wenn die vorhandenen Lampen nicht mit gewissen kleinen Fehlern behaftet wären, die den Wunsch nach Verbesserung erwecken. Diese Fehler sind hauptsächlich Unhandlichkeit, Abgabe von störendem Seitenlicht und Schwierigkeit des Einstellens. Die sehr gut wirkende Schusterkugel z. B. beansprucht ziemlich viel Platz und entfaltet ihre volle Wirksamkeit nur bei sorgfältigster Einstellung; die geringste Verschiebung des Mikroskops macht eine neue, zeitraubende Einstellung nötig. Wird diese unterlassen, so ist das Licht schlechter als das einer einfachen Lampe.

Um diese Fehler zu beseitigen, habe ich eine Lampe konstruiert, bei welcher die Fortleitung des Lichtes von der Lichtquelle zum Mikroskopspiegel durch ein gerades, innen poliertes Metallrohr erfolgt. Dieses Rohr wirkt wie der Glasstab der Kochs-Wolzschen Zirkonlampe, nur daß bei dem Rohr der sehr erhebliche Lichtverlust fortfällt, der im Glasstab durch Absorption entsteht. Es genügt daher auch als Lichtquelle eine Gasglühlichtlampe. Diese sitzt in einem Gehäuse, das vorn eine Oeffnung hat. Vor der Oeffnung ist das licht-

leitende Rohr in der Weise angebracht, daß es in einer senkrechten Ebene und um einen in der Mitte des Glühkörpers gelegenen Punkt drehbar ist. Das Mikroskop wird so aufgestellt, daß sein Spiegel möglichst dicht an das freie Ende des Rohres heranrückt und die Rohrachse ungefähr durch die Spiegelmittle geht, worauf man den Spiegel so dreht, daß er das empfangene Licht in die Achse des Mikroskops sendet. Nach der Lampe zu ist das Rohr durch eine Konvexlinse und am Mikroskopende durch eine blaue Glasscheibe geschlossen.

Mit dieser Einrichtung erhält man eine Beleuchtung, welche die durch bestes Tageslicht erzeugte etwas an Stärke übertrifft, so daß man bequem mit sehr starken Vergrößerungen arbeiten kann. Andererseits gestattet diese Beleuchtung auch anhaltendes Arbeiten mit mittleren und schwachen Systemen, ohne das Auge durch Blendung zu ermüden. (Beim Arbeiten mit mittleren und schwachen Vergrößerungen empfiehlt es sich, eine Mattscheibe in den Kondensor zu legen.) Im übrigen ist alles störende Nebenlicht beseitigt. Der Apparat nimmt wenig Platz fort und ist leicht einzustellen; ist das Mikroskop verschoben worden, so genügt ein Griff, um es wieder mit Sicherheit an die Stelle zu bringen, wo es die beste Beleuchtung erhält. Schließlich kann auch niemals ein Gegenstand störend zwischen Lichtquelle und Spiegel treten, da das lichtgebende Strahlenbündel sich in einem geschlossenen Rohr bewegt.

Die Lampe wird von der Firma E. Leitz in Berlin NW., Luisenstraße 45, gefertigt und zum Preise von 18 Mark abgegeben.

Corrig.

Remplacer, page 101 — Mac Conkey ... „il n'y a pas de gaz, mais de l'acide seulement“, par: „pas de changement“.

Add. Bibliographie.

Adalbert Segin, Ueber die Einwirkung der Bakterien auf verschiedene Zuckerarten. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXIV. No. 3. p. 202.)

Etude d'une série de bactéries sur milieux sucrés, nutrosés, colorés avec de la teinture de tournesol. Les résultats correspondent le plus souvent avec ceux du présent travail: acidité des milieux, décoloration, sucres qui demeurent sans changement, etc.

Vourloud.

Inhalt.

- Almquist, E.**, Neue Tatsachen zur Biologie der Typhusbakterie, p. 491.
- Canfora, Michele**, Ueber die Latenz der Tetanussporen im tierischen Organismus, p. 495.
- v. Deckenbach, Constantin**, Zur Frage über die Aetiologie der Pellagra, p. 507.
- Fellmer, T.**, Veränderungen an Nagana-Trypanosomen durch Igelpassage, p. 517.
- Fuhrmann, O.**, Bekannte und neue Arten und Genera von Vogeltänien, p. 516.
- de Josselin de Jong, R.**, Ein Fall von Meningitis gonorrhoeica, p. 501.
- Kentzler, Julius**, Beitrag zur Hämolysebildung der Typhusbacillen, p. 536.
- Klimenko, W. N.**, *Bacterium mariense* (nov. spec.), ein neuer Alkalibildner, p. 481.
- van Loghem, J. J.**, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsera. Ein Beitrag zur Frage der Agglutinationshemmung und zur Kenntnis des Typhusdiagnostikums nach Ficker, p. 539.
- Nedrigailoff und Ostrjanin**, Ueber die Immunisation gegen das Diphtherietoxin, p. 558.
- Peabody, F. und Pratt, J.**, Ueber den Wert von Malachitgrünährböden zur Differenzierung von Typhus- und Colonic bacillen. Beschreibung einer neuen Methode zur Isolierung von Typhusbacillen aus dem Stuhl, p. 550.
- Rosenthal, Werner**, Filtrierapparat zur Gewinnung keimfreier Filtrate und insbesondere zur Erprobung verschiedener Filtersubstanzen, p. 563.
- Stigell, E.**, Ueber das spezifische Gewicht einiger Bakterien, p. 487.
- Troester, C.**, Eine neue Mikroskopierlampe, p. 574.
- Corrigendum**, p. 575.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Untersuchungen über Bakterien der Coli-Gruppe.

[Aus dem hygienischen Institut zu Kiel (Geheimrat B. Fischer).]

Von **Arnold Burk**, Assistenten des Instituts.

Nachstehende Arbeit soll die Frage untersuchen, ob sich, namentlich durch die in den letzten Jahren neu hinzugekommenen Hilfsmittel, der Begriff „*Bacterium coli*“ bestimmter gestalten läßt, und unter den vielen unter diesem Namen laufenden Bakterien bestimmte Unterabteilungen gebildet werden können.

Die Literatur über *Bacterium coli* ist sehr umfassend; der größte Teil stammt jedoch aus der Zeit, in welcher unter anderem der Lackmus-Laktoseagar, der Malachitgrünagar, Endos Fuchsinagar noch nicht bekannt waren. Dies ist bei der Beurteilung früherer Angaben zu berücksichtigen, und ich bin gewiß, daß mancher von den in der Gräfschen Arbeit (Zur bakteriologischen Typhusdiagnose) aufgeführten Stämme als *Bacterium coli* lief, solange man den ausgezeichneten v. Drigalski-Conradischen Nährboden nicht hatte. Nachdem besonders Escherich, Smith, Jatta, Radziewsky, Sidney Wolf, Bruns und Kayser, Lesage u. A. betonten, daß wir in dem „*Bacterium coli*“ nicht ein Bakterium mit einer ganz bestimmten konstanten Reihe von Merkmalen, sondern ein solches mit vielen Spielarten vor uns haben, wird mit Recht vielfach von der „Coli-Gruppe“ gesprochen.

Die untersuchten Colistämme waren isoliert aus Stuhl- und Urinproben, die größtenteils zur Typhusdiagnose dem Untersuchungsamt am Kieler hygienischen Institute eingesandt waren, zum kleineren Teile von Gesunden stammten. Im ganzen handelt es sich um 68 Personen, meist Erwachsene; bei 12 davon konnte das Untersuchungsamt Typhus feststellen, bei 4 Paratyphus, bei 36 war das Ergebnis negativ, ohne damit sagen zu wollen, daß der eine oder andere dieser Fälle nicht doch Typhus gewesen wäre; 16 Proben stammten endlich von Personen, die sicher nicht an Erkrankungen des Magendarmkanals litten. Von diesen 68 Personen wurden 139 Stämme isoliert, 115 aus Stuhl-, 24 aus Urinproben, 3mal waren Stämme aus dem gleichen Individuum zu verschiedener Zeit gezüchtet. Die Isolierung wurde regelmäßig von der direkten Aussaat auf Lackmus-Laktoseagar gemacht, wobei nur „rot-wachsende“ Kolonien genommen wurden; zeigten hierbei diese roten Kolonien makroskopisch unter sich Unterschiede, so wurde von jeder Sorte mindestens eine zur weiteren Prüfung benützt. Man kann nämlich leicht schon auf der 24-stündigen Kultur sehen, daß die rot gewachsenen Kolonien nicht alle gleich aussehen. Escherichs Auffassung des an das Individuum angepaßten Coli-Stammes darf jedenfalls nicht so verstanden werden, als beherberge jedes Individuum nur eine Rasse von *Bact. coli* in seinem Darms. Die weitere Verfolgung der isolierten Stämme wird deutlich ergeben, daß, wie ja schon von verschiedenen Seiten festgestellt ist, sowohl zu verschiedenen Zeiten als in derselben Entleerung sich untereinander abweichende Coli-Bakterien befinden. Mehr als 4—5 derartig verschieden aussehende Kolonienarten kamen dabei jedoch nicht vor, und wenn ich auch vielleicht nicht alle

in den betreffenden Individuen vorkommenden Rassen gefunden habe, so habe ich doch den Eindruck, daß ich bei reichlicherer Entnahme nicht noch wesentlich mehr Arten erlangt hätte. Mehrfach absichtlich abgenommene gleich aussehende Kolonien haben sich auch meist als übereinstimmend herausgestellt.

I. Kulturunterschiede.

Von jeder ausgewählten Kolonie wurde zunächst eine Strichkultur auf Gelatine angelegt. Nachdem ich eine genügende Zahl gesammelt hatte, wurden dann von sämtlichen an einem Tage auf in einer Portion zubereiteten Gelatine Strichkulturen gemacht, um zur Vergleichung durchaus gleichmäßige Verhältnisse zu bieten. Nach 14 Tagen zuerst und später etwa alle 8 Tage wurden die Strichkulturen im auffallenden und durchfallenden Licht verglichen. Auf diese Weise ließen sich zunächst auf den ersten Blick 2 Abteilungen unterscheiden; nur vereinzelte Stämme schienen anfangs Uebergänge zu bilden, konnten aber nach längerer Beobachtung der einen oder anderen Abteilung zugezählt werden. Die eine zeichnete sich aus durch einen ziemlich kräftigen, aber mehr trockenen, grauweißlichen, in der Aufsicht leicht perlmutterartig glänzenden Belag, meist mit etwas gezackten Rändern. Die andere fiel schon nach 14 Tagen auf durch bedeutend dickere, saftigere, im durchfallenden Lichte weniger durchscheinende Auflagerungen mit sehr starken Reflexen und ausgesprochen weißem Farbton; die Seitenränder des Striches waren hier meist glatt, und nach 3—4 Wochen war die Hauptmasse der Kultur in die Kuppe des aufrecht stehenden Röhrchens herabgerutscht, so wie es bei *Bact. paratyphi B* regelmäßig beobachtet wird. Auch bei vielfachen Uebertragungen behielten die einzelnen Stämme das trockene bezw. saftige Aussehen, das sie bei der ersten Züchtung gezeigt hatten, regelmäßig bei. Der letztere Typus scheint mir übereinzustimmen mit den von Pfaunder erwähnten, von einer Reihe von Autoren beobachteten „opaken, scharf umschriebenen, dicken, weißen und runden“ Kolonien. Der weitaus größere Teil der Stämme gehörte dem ersten, mehr trockenen Typus an. Die hierher gehörigen Stämme, die auch auf anderen Nährböden ein weniger üppiges Wachstum erkennen ließen, habe ich im nachfolgenden als „Abteilung I“ von den in der „Abteilung II“ zusammengefaßten saftig wachsenden unterschieden.

Zu erwähnen wäre noch, daß bei 5 Stämmen (526₁, 527, 603₁, 857₂, 857₃) der I. Abteilung (trockener Typus) die ziemlich trockene, in kleinen Bröckeln abhebbare Kultur am Rande reichlich zierliche, etwa einer Handkrause vergleichbare Fältelung bildete, so daß ich sie von den übrigen unterscheiden zu müssen glaubte. Bei ein oder zwei Uebertragungen, bei welchen ich vielleicht noch Röhrchen aus der gleichen Gelatineportion hatte, wurde dieselbe Form auch ebenso deutlich wiedergefunden, später aber wuchsen alle 5 Stämme ebenso, wie die übrigen der Abteilung I, und sind heute von ihnen nicht mehr zu unterscheiden. Es scheint überhaupt, als würde die Art des Wachstums sehr von dem jeweiligen Zustande der Gelatine beeinflußt, denn meistens habe ich nach Uebertragen der Stämme auf eine neue Gelatine ein etwas abweichendes Wachstum bemerken können, obgleich die Gelatine stets in derselben Weise und von derselben Person zubereitet war. Es spielen dabei wohl schwer kontrollierbare, zufällige Unterschiede des Nährbodens eine Rolle. Stämme, die gleichzeitig auf eine neue Gelatinemenge übertragen wurden,

zeigten auch hier unter sich eine parallele Veränderung des Aussehens. Es bleibt also höchstens ein gewisser Vergleichswert bestehen, die einzelne Beschreibung ist hingegen nutzlos.

Zwei andere Stämme (Tab. II, Typ. 20) bildeten auf der Gelatine einen ausgesprochen orangegelben Farbstoff und taten dies auch auf jedem anderen geprüften festen Nährboden, sofern nicht die Eigenfarbe desselben störte. Farbstoffbildende Coli-Bakterien sind bisher zwei von Deeleman beschrieben, ein roter und ein grüner, bei denen nach längerer Züchtung die Intensität der Farbstoffbildung abnahm. Letzteres kann ich bis jetzt (nach 6 Monaten) von meinen übrigens auch in den anderen Merkmalen übereinstimmenden und sonst vom *Bact. coli* nicht abweichenden Stämmen nicht sagen. Bezüglich ihrer Zugehörigkeit zur Coli-Gruppe verweise ich auf Tab. II.

Aus einem Individuum wurden 2 identische Stämme gezüchtet, der Abteilung II angehörig, welche beim Abnehmen mit der Nadel bis zu $\frac{1}{2}$ m lange zähschleimige Fäden bildeten (Tab. II, Typ. 40).

Gelatine verflüssigende Stämme habe ich nicht gefunden.

Beim Wachstum in Bouillon traten keine Unterschiede hervor. Sie wird in 24 Stunden diffus getrübt und es bildet sich ein geringer leicht krümeliger Bodensatz.

Auf Kartoffeln zeigt nach den bisherigen übereinstimmenden Angaben *Bact. coli* meist gelbliche, kräftige Auflagerungen. Daß man sich gerade bei Beurteilung des Wachstums auf diesen Nährboden kritisch verhalten muß, ist bekannt; von den verschiedensten Seiten ist darauf hingewiesen, daß bei Vergleichen die übereinstimmende Reaktion der Stücke u. a. m. von größter Wichtigkeit ist, so daß sich die Züchtung auf Stücken von einer und derselben Kartoffel empfiehlt. Bei der Prüfung von 139 Stämmen sind aber diese Voraussetzungen ja kaum zu erfüllen, und deshalb darf auf diese Vergleiche nicht zu viel Wert gelegt werden. Ich unterlasse es deshalb, für jeden einzelnen Stamm eine genaue Angabe zu machen, zumal die Unterschiede der Farbe des Belags keine großen sind, und noch dazu bei Kontrollproben öfters wechselten. Meistens beobachtete ich leicht gelbliche oder weißliche Auflagerungen, die bald eben, bald deutlich sichtbar, bald außerordentlich üppig und saftig waren. Tabelle II zeigt, daß das üppige Wachstum im allgemeinen der Abteilung II, nur vereinzelt der Abteilung I zukommt, wo dann der Belag auch meistens weniger gelb war, als bei Abteilung II. Daß die Stämme 374₂ und 632 (Tab. II, Typ. 20) auch auf Kartoffel intensiv gelb wuchsen, ist schon erwähnt.

Als eines der wesentlichsten Merkmale des „*Bact. coli commune*“ wird die Beweglichkeit angegeben. Escherich beschrieb es zunächst als ein Kurzstäbchen mit mäßiger Eigenbewegung; nach Pfandler besitzt es „zumeist die Fähigkeit aktiver Lokomotion“. „Der häufigste Befund ist in der Tat eine nur sehr geringfügige Eigenbewegung, deren Charakter als kurzes, ruckweises Vorstoßen neben Oszillation nach allen Richtungen des Raumes, ohne wesentliche Ortsveränderung gekennzeichnet wird.“ Da es aber auf Grund der verschiedensten Aenderungen der Lebensbedingungen zu Abweichungen komme, welche Veranlassung zu der Bezeichnung „Spielarten“ geben, wird bei seiner Zusammenstellung der Merkmale im Gegensatz zu den obligaten Eigenschaften (Kurzstäbchenform, üppiges Wachstum auf den gebräuchlichsten Nährböden, Entfärbung noch Gram, keine Verflüssigkeit der Gelatine, keine Sporenbildung) der Beweglichkeit nur fakultativer Charakter zugesprochen. — In der Tat

gehen die Befunde darüber stark auseinander, und viele Untersucher fanden sowohl bewegliche als unbewegliche Formen, die einen jene, die andern diese in der Ueberszahl. Auch ich habe bewegliche und unbewegliche gefunden, doch scheinen mir die auseinandergehenden Aussagen verschiedener Untersucher zum Teil in der verschiedenen Technik einen Grund zu haben. Es kommt vieles auf die Untersuchungsbedingungen an. Sion und Negel bemerken, daß nach 2-stündigem Aufenthalt außerhalb des Brutschrankes die Beweglichkeit schon merklich abnehme. Will man also genaue Ergebnisse haben, so untersuche man, wenn nicht auf dem heizbaren Objektische, so doch sofort nach Herausnehmen der Kultur aus dem Brutschrank. Außerdem müssen die Kulturen ganz jung sein. Am günstigsten fand ich die Untersuchung des Kondenswassers von 6—10-stündigen schrägen Agarröhrchen gleich nach Herausnehmen aus dem 36°-Schranke. Hierbei ist der Temperaturwechsel nicht ganz so schroff, wie bei Verreiben in zimmerwarmer physiologischer Kochsalzlösung. Alle diejenigen Stämme, welche anfangs, als von der 18—20 Stunden alten Kultur eine Spur in einen Tropfen zimmerwarmer physiologischer Kochsalzlösung gegeben wurde, keine Bewegung zeigten, werden nachher unter Einhaltung obiger Maßregeln nachgeprüft und so bei einer ganzen Reihe als unbeweglich notierter Stämme viele recht lebhaft bewegliche Stäbchen gefunden. Während bei dem zuerst angewandten Verfahren oft alles ruhig zu liegen scheint, bis plötzlich nach langem aufmerksamen Beobachten ein bewegliches Stäbchen auftaucht oder ein bisher unbewegliches sich mit guter Bewegung löst, habe ich bei der Untersuchung des Kondenswassers sehr junger Kulturen entweder sehr viele oder gar keine Stäbchen sich bewegen sehen. Die Grenze wird also bedeutend schärfer. — Daß die Fortbewegung meist eine geringfügige sei, kann ich nicht bestätigen, vielmehr war sie in meinen Fällen (61 von 139) eine recht gute, oft schießende, oft sich überschlagende. Andere Stämme haben allerdings nur eine leicht oszillierende, scheinbar bohrende Bewegung, ohne daß Ortsveränderung wahrzunehmen wäre. Es ist schwierig zu entscheiden, wieviel davon als Eigenbewegung, wieviel als Brownsche Molekularbewegung anzusehen ist. Ich wagte nicht, dies zu entscheiden, und spreche deshalb von „beweglichen“ Stäbchen nur, wenn Ortsveränderung deutlich wahrzunehmen ist. Mit der Beobachtung Ehrenfests, daß die „gefransten“ Kolonien aus beweglichen, die kreisrunden aus unbeweglichen Stäbchen bestehen, stimmen meine Befunde nicht überein. Abweichungen in beiden Richtungen habe ich gesehen. — Auf die Beweglichkeit oder Unbeweglichkeit allein eine Einteilung der Stämme zu begründen, scheint mir, so verlockend dies auch sein mag, doch nicht zulässig, da, wie gesagt, die exakte Feststellung dieser Eigenschaft doch mit zu großen Schwierigkeiten verbunden ist.

Die Form ist meistens die von kurzen, mäßig dicken Stäbchen. Bei einer Reihe von Stämmen, die ich alle wiederholt zu verschiedenen Zeiten bei etwa gleich alten Kulturen untersuchte, wurden mitunter über die gewöhnliche Länge hinausgehende Formen notiert, indes nur 4mal (466, 470₃, 470₄, 468, Tab. II, Typ. 2 und 10) fand ich dieses konstant. Allzu großen Wert möchte ich daher auf die Form der Stäbchen nicht legen, da ich nicht feststellen kann, was dabei als Degenerationsform anzusehen ist. Außerdem sah ich öfters mehr oder weniger lange Fäden, bald gegliedert, bald ungegliedert, und zwar vorwiegend in jenen Fällen, in welchen mitunter längere Formen vorkamen, so daß diese vielleicht als sehr kurze, ungegliederte Fäden aufzufassen sind.

Zur Indolprobe wurde eine 8 Tage alte Peptonwasserkultur mit dem halben Volumen einer 10-proz. Schwefelsäure versetzt und auf 80° erhitzt. Darauf wurde etwa 1 ccm 0,02-proz. Natriumnitritlösung zugesetzt. Ebenso behandelte Kontrollen zeigten gar keine oder ein paar-mal kaum wahrnehmbare Rosafärbung. Bei den meisten Stämmen genügte schon der Schwefelsäurezusatz mit Erwärmung, um eine mehr oder weniger starke Rosa- bis Weinrotfärbung zu erzeugen, welche nach Nitritzusatz keine Steigerung erfuhr. Hier hatte der Stamm also offenbar außer dem Indol auch Nitrit gebildet. Das war bei einigen Stämmen nicht der Fall; hier trat die Rötung immer erst bei Nitritzusatz, und zwar stets in ziemlich schwachem Grade auf. Ich habe keinen Stamm gefunden, bei welchem die Reaktion nicht stärker gewesen wäre, als bei der mit bakterienfreiem Peptonwasser angesetzten Kontrolle. Sowohl in Abteilung I wie in II (vergl. Gelatine), bei beweglichen und unbeweglichen, kamen beide Arten der Indolreaktion vor, wie Tab. II zeigt. Eine Einteilung je nach der vorhandenen oder fehlenden Nitritbildung würde also zu weiterer Zersplitterung führen.

Sterilisierte abgerahmte Milch war bei den meisten Stämmen nach 48 Stunden im 36°-Schrank geronnen. Nur wenige brauchten dazu 5—10 Tage, meist dieselben, welche sich auch in anderen Nährböden, nämlich Neutralrot, Lackmusmolke und Barsiekow-Milchzucker durch langsamere Säurebildung auszeichneten (Tab. II). Sie verteilen sich auf beide Hauptabteilungen, auf die beweglichen und die unbeweglichen, und auf beide sich in der Nitritbildung unterscheidenden Typen. Bemerkenswert ist, daß diejenigen Stämme, welche konstant als längere Stäbchen beobachtet wurden, alle verlangsamte Milchgerinnung zeigten und auch von den übrigen mit letzterer Eigenschaft versehenen, da und dort längere Stäbchen und Fadenbildungen verzeichnet wurden. Doch waren auch unter den typischen Kurzstäbchen solche, die Milch erst nach mehreren Tagen zur Gerinnung brachten.

Rothbergers Neutralrot-Traubenzuckeragar wurde von den meisten Stämmen durch kräftige Gasentwicklung binnen 24 Stunden auseinandergerissen und gelblich fluoreszierend verfärbt. Erst nach 2—3 Tagen war die Gelbfärbung vollständig. Einige Stämme jedoch, meist solche mit verlangsamter Gerinnung der Milch, ließen den Nährboden 3 Tage lang (bei 36°) ganz unverändert; dann bildeten sich geringe Mengen von Gas und gar keine oder Spuren von Verfärbung.

Ähnlich verhielten sich, und zwar vorwiegend dieselben Stämme gegenüber der Lackmusmolke, indem sie diese erst nach 2—3 Tagen röteten, während dies die meisten Stämme schon in 24 Stunden taten. Es schien zunächst, als könnte hier eine Varietät abgetrennt werden, welche sich durch schwächere Angriffsfähigkeit gegenüber den Zuckerarten auszeichne; jedoch wurden bei näherer Prüfung auch diese Stämme durch wesentliche Unterschiede auseinandergerissen. Sie waren nur zum Teil beweglich, gehörten nach ihrem Wachstum auf Gelatine sowohl der I. als der II. Abteilung an, verhielten sich auch dem Rohrzucker gegenüber verschieden (s. unten), und hatten alle außer einem das gemeinsam, daß sie Nitrit bildeten. Ein einziger Stamm (Tab. II, Typ. 35), ein kurzes, unbewegliches Stäbchen, das auch Neutralrot nur langsam angriff, entfärbte Lackmusmolke fast vollständig, ohne daß eine Rötung vorher eintrat.

Barsiekow-Traubenzuckerlösung brachten alle untersuchten Stämme in 24 Stunden zur Gerinnung.

Auch in Barsiekow-Milchzuckerlösung blieb diese bei keinem Stamme aus. Doch war hier nach 24 Stunden stets nur eine rötliche Trübung, erst nach 2–3 Tagen Gerinnung vorhanden. Einige Stämme verhielten sich besonders träge. Es sind dies 3 (Typ. 14 und 15) der Abteilung II (vergl. Gelatine), welche auch Milch erst nach längerer Zeit zur Gerinnung bringen und Lackmusmolke später röten. Auch ein 4. Stamm, aus der I. Abteilung, braucht zur Koagulierung der Milch länger. Jedoch umgekehrt existieren mehrere Stämme, welche allein gegenüber der Milch eine Verlangsamung in der Gerinnung aufweisen: das Kasein der Nutrose wird also anscheinend leichter ausgefällt als das der Milch.

Eines der wesentlichsten Unterscheidungsmerkmale zwischen Typhus- und Coli-Bakterien ist die Fähigkeit der letzteren, Milchzucker zu vergären. Mit dem v. Drigalski-Conradischen Lackmus-Laktoseagar und dem Endoschen Nährboden findet dieses Prinzip die ausge dehnteste praktische Anwendung zur Trennung dieser Bakterien. Da im hiesigen Untersuchungsamt alle Stühle und Urine auf Lackmus-Laktoseagar ausgesät wurden, bin ich von diesem Nährboden ausgegangen und habe nur solche Kolonien berücksichtigt, die auf ihm rot wuchsen. Bei Betrachtung solcher Stuhlaussaaten fand ich vorwiegend zwei Typen roter Kolonien, die immer wiederzukehren scheinen, oft auf derselben Platte nebeneinander. Beide Male handelt es sich nach 20 bis 24 Stunden um runde Kolonien. Die einen sind hell und gut durchsichtig und bilden bei längerem Wachstum breite flache Kolonien, sehr oft mit gefranstem Rand. Sie fallen mit dem bei Besprechung des Gelatinewachstums als Abteilung I bezeichneten trockenen Typus zusammen. Die anderen Kolonien mit dem saftigen Typus „Abteilung II“ auf Gelatine identisch fallen durch größere Ueppigkeit auf, die Einzelkolonie ist höher, der Halbkugelgestalt mehr genähert, ist undurchsichtiger und hat im auffallenden Lichte etwas weißlichen Schimmer und sehr starke Reflexe. Einander benachbarte Kolonien fließen gern zusammen. Nach weiteren 24 Stunden schlägt bei vielen der rote Farbton in blauen um. Bei einigen, die jedoch unter sich nicht gleich sind, bilden sich nach 2 bis 3 Tagen deutliche schleimige Wälle. Es sind wohl dieselben, welche Conradi, v. Drigalski und Jürgens beschrieben haben. — Nach einigen Tagen ist der Unterschied der beiden Kolonienarten noch mehr in die Augen fallend. Er erwies sich als konstant, denn bei der Fortzucht schlug nie die eine Art in die andere um; auch zeigte er sich auf anderen Nährböden konstant. Die einzelnen Stämme dieser beiden Abteilungen differierten allerdings untereinander bezüglich Beweglichkeit, Nitritbildung und Wachstum auf Malachitgrünagar.

Als ein durch üppiges Wachstum und fehlende Indolbildung von *Bact. coli* verschiedenes unbewegliches Stäbchen wird das *Bact. aërogenes* beschrieben. Gräff beschreibt es als Coli-ähnlich, aber sich unterscheidend durch „Nachbläuen“ auf Lackmus-Laktoseagar und gutes Wachstum auf Malachitgrünagar. Man wird erkennen, daß die Gräffsche Beschreibung „schleimig, rötlichweiße Kolonien, nach 24 bis 72 Stunden Einzelkolonien im auffallenden Licht porzellanweiß mit bläulichem Ton“, was das Wachstum auf Lackmus-Laktoseagar betrifft, auf meine Abteilung II zuzutreffen scheint. Bei genauer Prüfung sind es aber nur die Typen 12 und 13 der Tab. II, bestehend aus 6 Stämmen, welche nach den angegebenen Merkmalen in Betracht kämen. Sie fallen durch ganz besonders üppiges Wachstum und frühzeitiges „Nachbläuen“

auf. Da aber auch sie Indol bilden und im übrigen von den anderen Coli-Stämmen zu ihnen kein größerer Sprung ist als zwischen den anderen Typen unter sich, so wüßte ich nicht, wo jene von der Coli-Gruppe abzutrennen wären. Die Fähigkeit, auf Malachitgrünagar zu wachsen, haben auch Angehörige der Abteilung I, die Unbeweglichkeit kann kein Unterscheidungsmerkmal von *Bact. coli* sein, denn auch dieses wurde oft genug unbeweglich gefunden, das spätere Blauwerden kann auch nicht ins Gewicht fallen. Denn was besagt es schließlich? Durch das üppigere Wachstum wird der vorhandene Zucker schneller verbraucht und dann der Umschlag in der Reaktion dadurch hervorgerufen, daß aus den Eiweißkörpern Alkali gebildet wird. Andere Stämme erreichen diesen Grad eben später, eventuell erst nach Abschluß der üblichen Beobachtungszeit, oder aber ihr Wachstum wird schon durch die gebildete Säure gehemmt, bevor aller vorhandene Zucker zerlegt ist, und so bleibt der Umschlag in die alkalische Reaktion natürlich aus. — Es ist leicht nachzuweisen, daß hier nur ein quantitativer Unterschied vorliegt und also das „Nachbläuen“ nur eine Folge des üppigeren Wachstums ist. Man braucht nur dafür zu sorgen, daß die Coli-Bakterien der Abteilung I gar nicht in die Lage kommen, so viel Säure zu bilden, daß das eigene Wachstum gehemmt wird. Ich setzte deshalb den Prozentgehalt an Milchzucker im Lackmus-Laktoseagar von $1\frac{1}{2}$ Proz. auf $\frac{1}{2}$ Proz. herab. Es zeigte sich prompt bei Angehörigen der Abteilung I „Nachbläuen“ schon innerhalb 24 Stunden. Umgekehrt wurde durch 3 Proz. Milchzucker das „Nachbläuen“ bei den üppigen Stämmen hinausgeschoben und sogar verhindert. Ich komme also zu dem Schluß, daß ich, obwohl ich die verschiedensten „rotwachsenden“ Kolonien isoliert habe, entweder kein *Bact. aërogenes* in Untersuchung bekommen habe, was nicht sehr wahrscheinlich ist, oder aber der Uebergang von *Bact. coli* zu jenem ist ein so fließender, daß ohne Willkür die Trennungslinie nicht festgestellt werden kann. Wollte man gar die ganze saftiger wachsende Abteilung II zu *Bact. aërogenes* rechnen, so würden auch hier wieder nach dem Verhalten gegen Malachitgrün, Blutagar (s. unten), Saccharose und andere Zucker eine Reihe von Unterabteilungen für dieses Bakterium entstehen.

Ist Milchzucker ein geeignetes Mittel zur Unterscheidung von Typhus-, Enteritis- und Coli-Bakterien, so ist es weiterhin interessant zu erfahren, wie sich die letzteren gegenüber anderen Kohlenhydraten verhalten. Derartige Untersuchungen haben v. Drigalski und Conradi sowie Smith angestellt. Des Vergleiches halber erwähne ich von den Resultaten ersterer (zitiert nach Escherich und Pfaunder) nur das Verhalten auf den auch von mir geprüften Zuckern:

Dextrose:	rot
Galaktose:	rot
Arabinose:	rot
Laktose:	rot
Maltose:	rot oder mäßig rot
Mannit:	blau oder rot
Saccharose:	blau
Dextrin:	blau
Inulin:	blau

Sie verwendeten dabei Lackmusagar mit 1 Proz. des betreffenden Zuckers.

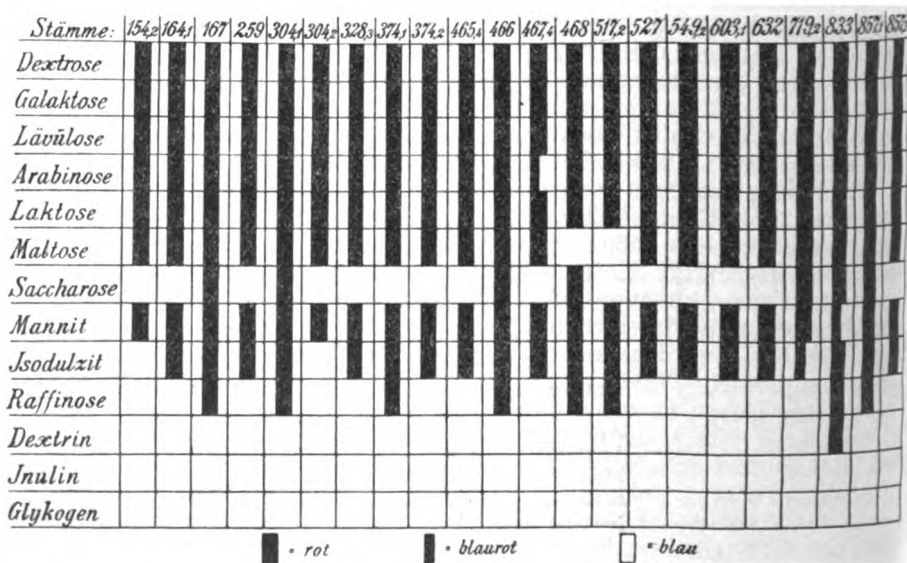
Smith fand dagegen, daß Coli-Bakterien auf Saccharose teils rot, teils blau wuchsen, und schied sie deshalb in eine α - und β -Reihe.

Da mir nicht für alle Stämme von jeder Zuckerart eine ausreichende Menge zur Verfügung stand, wählte ich unter ihnen 22 möglichst verschiedenartige aus. Ich stellte mir Nährböden her, welche dem üblichen Lackmus-Laktoseagar entsprachen, jedoch unter Fortlassung des wachstumhemmenden Kristallvioletts. Die Laktose wurde durch gleiche Gewichtsmengen ($1\frac{1}{2}$ Proz.) der zu prüfenden Zuckerart (Mercksche Präparate) ersetzt. Das Ergebnis war folgendes:

Hexosen	{ Dextrose: Galaktose: Lävulose:	{ alle rot
Pentose	Arabinose:	21 rot, 1 blaurot
Disaccharide	{ Laktose: Maltose: Saccharose:	{ alle rot 20 rot, 2 blau 7 rot, 15 blau
mehrwertige Alkohole	{ Mannit: Isodulcit:	{ 21 rot, 1 blau 19 rot, 1 blaurot, 2 blau
Trisaccharid	Raffinose:	7 rot, 15 blau
Polysaccharide	{ Dextrin: Inulin: Glykogen	{ 1 rot, 21 blau alle blau alle blau

Während also die Monosaccharide so gut wie ausnahmslos zersetzt wurden, die Polysaccharide mit einer Ausnahme nicht, hatten die mehrwertigen Alkohole, die Disaccharide und das Trisaccharid verschiedene Ergebnisse, wie dies auch die Tabelle I zeigt. Saccharose und Raffinose wurden von etwa dem dritten Teil der geprüften (und zwar vorwiegend von den gleichen) Stämmen zerlegt. Daß Raffinose so angreifbar ist, war mir überraschend, da Capaldi und Proskauer keinen aus Raffinose Säure bildenden Coli-Stamm gefunden hatten.

Tabelle I.



Da die 22 Stämme in ihrem Verhalten gegen Saccharose und Raffinose die auffälligsten und dabei meist übereinstimmende Unterschiede zeigten, beschränkte ich mich darauf, alle Stämme auf Saccharose zu prüfen.

Es ist keine große Umständlichkeit, so viele Stämme gleichzeitig und unter gleichen Bedingungen zu untersuchen; Schalen mit dem zu prüfenden Lackmuszuckeragar teilt man auf der Rückseite mit dem Farbstift in Felder ein; in jedes Feld zieht man dann von der betreffenden Kultur einen kurzen Impfstrich. Die Felder dürfen nicht zu klein gemacht werden, damit eine gegenseitige Beeinflussung der Stämme ausgeschlossen bleibt. Auf diese Weise lassen sich auf eine 15 cm breite Schale 30–40 Stämme aussäen, und man hat dabei außer der Zeit- und Materialersparnis noch die Gewißheit, für alle gleichen Wachstumsbedingungen zu haben.

Es ergab sich nun, daß 45 (= 32 Proz.) Stämme auf Saccharose rot wuchsen, 94 (= 68 Proz.) blau. Nur 2 Stämme waren nur violett, nicht ausgesprochen rot; sonst waren die Unterschiede scharf und bei dieser Methode der Massenaussaat besonders deutlich ins Auge fallend. Hier wäre also ein Mittel gefunden, welches mit Berechtigung eine Trennung der Arten gestattet, analog der Unterscheidung von Coli-Bakterien und Typhuserregern auf Laktoseagar. Die Smithsche α - und β -Reihe gewinnt an Sympathie, und ich bin auch in meiner Tabelle diesem Unterschiede als einem durchgreifenden und am wenigsten fließenden gefolgt. Es stellte sich nun dabei heraus, daß beide durch Saccharosewachstum gebildeten Abteilungen keine anderen Merkmale ausschließlich für sich hatten, ausgenommen die Hofbildung auf Blutagar (s. unten), und daß es also möglich ist, die bisher gefundenen Unterabteilungen hierdurch wieder je in eine Saccharose zerlegende und eine sie nicht zerlegende zu trennen. Hätte ich alle Stämme auch mit den übrigen nur beschränkt verwendeten Kohlenhydraten geprüft, so wären offenbar noch mehr kleine Abteilungen für sich abgesprengt worden.

Da nach Angaben von Conradi und v. Drigalski Polysaccharide von *Bact. coli* nicht zerlegt werden, ich aber unter den erstgeprüften 22 Stämmen einen auf Dextrin rot wachsenden fand, so prüfte ich auch darauf noch alle Stämme. Ich fand noch 2 weitere solche, von denen einer 568₄, mit dem erstgefundenen, 833, kulturell identisch war (Typ. 15 der Tab. II), der andere, 830₁ (Typ. 7), von diesen in wesentlichen Merkmalen verschieden war.

Ueber das Wachstum auf Endos Fuchsinagar ist nicht viel zu sagen, da nur geringe Unterschiede bestehen. Sämtliche Stämme, mit Ausnahme von 374₁ (Typ. 41, Tab. II), bildeten intensiv rote Kolonien, von welchen die meisten den typischen Metallglanz hatten. Einige, wie zu erwarten die saftigsten, entfärbten sich, 2–3mal 24 Stunden alt, wieder völlig. Bei längerer Beobachtung taten dies aber schließlich die Mehrzahl. Es handelt sich dabei um den Lackmus-Laktoseagar als „Nachbläuen“ durch Alkalibildung auftretenden analogen Vorgang. 5 Stämme, unter sich nicht alle identisch, zeichneten sich nach 2–3 Tagen durch deutliche Wallbildung aus, wenn die Kolonien gut isoliert liegen. Tabelle II zeigt, daß diese Stämme (603₁ und 615₁, 688₂, 879, 1394) allein schon 4 Typen (30, 27, 8, 5) bilden, indem davon nur die beiden ersten übereinstimmen.

Bei Prüfung des Wachstums auf Malachitgrünagar kam eine Konzentration von 1:51000 zur Verwendung, welche bei nach längeren Zeiträumen öfters wiederholter Prüfung stets Typhusbakterien noch gedeihen ließ, während Coli-Bakterien zum größten Teil darauf nicht mehr wuchsen. Bei der Prüfung sämtlicher Stämme auf diesem Nährboden fanden sich im ganzen 17, deren Gedeihen hier nicht verhindert wurde, und zwar zeichneten sich dabei die meisten sogar durch recht üppiges, in den ersten 24 Stunden etwa an Paratyphus B erinnerndes Wachstum aus. Die Hoffnung, hier eine oder höchstens zwei größere Gruppen feststellen zu können, bestätigt sich jedoch bei Berücksichtigung aller

Tabelle II.
Kulturunterschiede der 139 Coli-Stämme.
 (Der halbdicke Strich bedeutet verlangsamten Eintritt der Reaktion.)

Typus	Stamm (Buchnummer der Stahl- od. Urinprobe Eine Zahl hinter dem Punkt besagt, dass mehr ere Stämme aus der gleichen Probe unter- sucht wurden.)	Gelatine u. Agar Katalase sehr wenig	Beweglich	Burrische Milchsäure Gärung in 48	Lactose-milch Kochung in 24	Milch Gärung in 48	Neutralisation Gärung in 24	Endo's Agar Kochung	Machado's Agar Kochung	Saccharose Kochung	Nitritbildung	Blutagar Hämolyse
1	136 f 137 a 138 b 139 c 140 d 141 e 142 f 143 g 144 h 145 i 146 j 147 k 148 l 149 m 150 n 151 o 152 p 153 q 154 r 155 s 156 t 157 u 158 v 159 w 160 x 161 y 162 z 163 aa 164 ab 165 ac 166 ad 167 ae 168 af 169 ag 170 ah 171 ai 172 aj 173 ak 174 al 175 am 176 an 177 ao 178 ap 179 aq 180 ar 181 as 182 at 183 au 184 av 185 aw 186 ax 187 ay 188 az 189 ba 190 bb 191 bc 192 bd 193 be 194 bf 195 bg 196 bh 197 bi 198 bj 199 bk 200 bl 201 bm 202 bn 203 bo 204 bp 205 bq 206 br 207 bs 208 bt 209 bu 210 bv 211 bw 212 bx 213 by 214 bz 215 ca 216 cb 217 cc 218 cd 219 ce 220 cf 221 cg 222 ch 223 ci 224 cj 225 ck 226 cl 227 cm 228 cn 229 co 230 cp 231 cq 232 cr 233 cs 234 ct 235 cu 236 cv 237 cw 238 cx 239 cy 240 cz 241 da 242 db 243 dc 244 dd 245 de 246 df 247 dg 248 dh 249 di 250 dj 251 dk 252 dl 253 dm 254 dn 255 do 256 dp 257 dq 258 dr 259 ds 260 dt 261 du 262 dv 263 dw 264 dx 265 dy 266 dz 267 ea 268 eb 269 ec 270 ed 271 ee 272 ef 273 eg 274 eh 275 ei 276 ej 277 ek 278 el 279 em 280 en 281 eo 282 ep 283 eq 284 er 285 es 286 et 287 eu 288 ev 289 ew 290 ex 291 ey 292 ez 293 fa 294 fb 295 fc 296 fd 297 fe 298 ff 299 fg 300 fh 301 fi 302 fj 303 fk 304 fl 305 fm 306 fn 307 fo 308 fp 309 fq 310 fr 311 fs 312 ft 313 fu 314 fv 315 fw 316 fx 317 fy 318 fz 319 ga 320 gb 321 gc 322 gd 323 ge 324 gf 325 gh 326 gi 327 gj 328 gk 329 gl 330 gm 331 gn 332 go 333 gp 334 gq 335 gr 336 gs 337 gt 338 gu 339 gv 340 gw 341 gx 342 gy 343 gz 344 ha 345 hb 346 hc 347 hd 348 he 349 hf 350 hg 351 hi 352 hj 353 hk 354 hl 355 hm 356 hn 357 ho 358 hp 359 hq 360 hr 361 hs 362 ht 363 hu 364 hv 365 hw 366 hx 367 hy 368 hz 369 ia 370 ib 371 ic 372 id 373 ie 374 if 375 ig 376 ih 377 ii 378 ij 379 ik 380 il 381 im 382 in 383 io 384 ip 385 iq 386 ir 387 is 388 it 389 iu 390 iv 391 iw 392 ix 393 iy 394 iz 395 ja 396 jb 397 jc 398 jd 399 je 400 jf 401 jg 402 jh 403 ji 404 jj 405 jk 406 jl 407 jm 408 jn 409 jo 410 jp 411 jq 412 jr 413 js 414 jt 415 ju 416 jv 417 jw 418 jx 419 jy 420 jz 421 ka 422 kb 423 kc 424 kd 425 ke 426 kf 427 kg 428 kh 429 ki 430 kj 431 kk 432 kl 433 km 434 kn 435 ko 436 kp 437 kq 438 kr 439 ks 440 kt 441 ku 442 kv 443 kw 444 kx 445 ky 446 kz 447 la 448 lb 449 lc 450 ld 451 le 452 lf 453 lg 454 lh 455 li 456 lj 457 lk 458 ll 459 lm 460 ln 461 lo 462 lp 463 lq 464 lr 465 ls 466 lt 467 lu 468 lv 469 lw 470 lx 471 ly 472 lz 473 ma 474 mb 475 mc 476 md 477 me 478 mf 479 mg 480 mh 481 mi 482 mj 483 mk 484 ml 485 mm 486 mn 487 mo 488 mp 489 mq 490 mr 491 ms 492 mt 493 mu 494 mv 495 mw 496 mx 497 my 498 mz 499 na 500 nb 501 nc 502 nd 503 ne 504 nf 505 ng 506 nh 507 ni 508 nj 509 nk 510 nl 511 nm 512 nn 513 no 514 np 515 nq 516 nr 517 ns 518 nt 519 nu 520 nv 521 nw 522 nx 523 ny 524 nz 525 oa 526 ob 527 oc 528 od 529 oe 530 of 531 og 532 oh 533 oi 534 oj 535 ok 536 ol 537 om 538 on 539 oo 540 op 541 oq 542 or 543 os 544 ot 545 ou 546 ov 547 ow 548 ox 549 oy 550 oz 551 pa 552 pb 553 pc 554 pd 555 pe 556 pf 557 pg 558 ph 559 pi 560 pj 561 pk 562 pl 563 pm 564 pn 565 po 566 pp 567 pq 568 pr 569 ps 570 pt 571 pu 572 pv 573 pw 574 px 575 py 576 pz 577 qa 578 qb 579 qc 580 qd 581 qe 582 qf 583 qg 584 qh 585 qi 586 qj 587 qk 588 ql 589 qm 590 qn 591 qo 592 qp 593 qq 594 qr 595 qs 596 qt 597 qu 598 qv 599 qw 600 qx 601 qy 602 qz 603 ra 604 rb 605 rc 606 rd 607 re 608 rf 609 rg 610 rh 611 ri 612 rj 613 rk 614 rl 615 rm 616 rn 617 ro 618 rp 619 rq 620 rr 621 rs 622 rt 623 ru 624 rv 625 rw 626 rx 627 ry 628 rz 629 sa 630 sb 631 sc 632 sd 633 se 634 sf 635 sg 636 sh 637 si 638 sj 639 sk 640 sl 641 sm 642 sn 643 so 644 sp 645 sq 646 sr 647 ss 648 st 649 su 650 sv 651 sw 652 sx 653 sy 654 sz 655 ta 656 tb 657 tc 658 td 659 te 660 tf 661 tg 662 th 663 ti 664 tj 665 tk 666 tl 667 tm 668 tn 669 to 670 tp 671 tq 672 tr 673 ts 674 tu 675 tv 676 tw 677 tx 678 ty 679 tz 680 ua 681 ub 682 uc 683 ud 684 ue 685 uf 686 ug 687 uh 688 ui 689 uj 690 uk 691 ul 692 um 693 un 694 oo 695 op 696 oq 697 or 698 os 699 ot 700 ou 701 ov 702 ow 703 ox 704 oy 705 oz 706 va 707 vb 708 vc 709 vd 710 ve 711 vf 712 vg 713 vh 714 vi 715 vj 716 vk 717 vl 718 vm 719 vn 720 vo 721 vp 722 vq 723 vr 724 vs 725 vt 726 vu 727 vv 728 vw 729 vx 730 vy 731 vz 732 wa 733 wb 734 wc 735 wd 736 we 737 wf 738 wg 739 wh 740 wi 741 wj 742 wk 743 wl 744 wm 745 wn 746 wo 747 wp 748 wq 749 wr 750 ws 751 wt 752 wu 753 wv 754 ww 755 wx 756 wy 757 wz 758 xa 759 xb 760 xc 761 xd 762 xe 763 xf 764 xg 765 xh 766 xi 767 xj 768 xk 769 xl 770 xm 771 xn 772 xo 773 xp 774 xq 775 xr 776 xs 777 xt 778 xu 779 xv 780 xw 781 xx 782 xy 783 xz 784 ya 785 yb 786 yc 787 yd 788 ye 789 yf 790 yg 791 yh 792 yi 793 yj 794 yk 795 yl 796 ym 797 yn 798 yo 799 yp 800 yq 801 yr 802 ys 803 yt 804 yu 805 yv 806 yw 807 yx 808 yy 809 yz 810 za 811 zb 812 zc 813 zd 814 ze 815 zf 816 zg 817 zh 818 zi 819 zj 820 zk 821 zl 822 zm 823 zn 824 zo 825 zp 826 zq 827 zr 828 zs 829 zt 830 zu 831 zv 832 zw 833 zx 834 zy 835 zz											

übrigen Merkmale nicht. Inbetriff der Beweglichkeit, Nitritbildung, Milchgerinnung, Saccharose, Gelatine (Abt. I und II). zeigten sie so viele Unterschiede, daß sie in Tabelle II sich auf 9 verschiedene Typen verteilen. Jedoch sei bemerkt, daß keiner dieser 17 Stämme Hämolyse bildete (s. unten).

Auf Blutagar (Herstellung: vgl. Centralbl. f. Bakt. etc. Orig. Abt. I. Bd. XLI. p. 519) wuchsen sämtliche 139 Stämme in 24 Stunden bei 36° als mäßig große, glänzende Kolonien mit leicht grauem Scheine. Die Aussaat geschah, wie bei der Saccharoseprüfung, auf in Felder eingeteilte, große Schalen, in Form eines kurzen Striches. Auf diesem Nährboden verhielten sich 8 Stämme von den übrigen abweichend ohne Uebergänge, indem schon nach 14-stündigem Aufenthalt bei 36° ein deutlicher, relativ breiter, scharf begrenzter Hof um jeden Strich herum zu sehen war, in dessen Bereich der rote Farbstoff völlig verschwunden war. Ganz dasselbe Verhalten zeigte ein in Reinkultur aus einer Lumbalfüssigkeit gezüchtetes Coli-Bakterium, über welches anderenorts berichtet wird (in Tab. II nicht angeführt).

Diese Erscheinung wird meist als „Hämolyse“ beschrieben. Es handelt sich aber nicht

um eine bloße Auflösung, sondern um eine Zerstörung des Hämoglobins, da die Kolonienhöfe nicht lackfarbenrot, sondern farblos sind. Um zu sehen, ob die Hämoglobinzerstörung in Blutbouillon ebenfalls auftritt, wurden je 2 ccm Bouillon im Reagenzglas mit 1 Tropfen defibriniertem Ziegenblut beschickt mit dem zu prüfenden Stamm beimpft. Nach 14 Stunden bei 36° hatte sich in der größten Mehrzahl der 139 Versuchsröhrchen der Blutropfen am Boden abgesetzt, so daß darüber die durch das Wachstum soeben getrübe, aber farblose Bouillon stand. Allein in denselben 9 Röhrchen, welche auf Blutagar die Hofbildung gemacht hatten, zeigte sich die Bouillon fast bis zur Oberfläche intensiv rot gefärbt, lackfarben, von einer Zerstörung des roten Farbstoffes war jedoch selbst nach etwa 14-tägiger Beobachtung nichts zu bemerken. Die sonstigen Kulturmerkmale der 8 Stämme sind aus Tabelle II (Typ. 25, 26, 28, 38) zu ersehen. Die unbeweglichen Stäbchen 262, 549.₁, 768.₆ und 2787.₂ stimmen untereinander völlig überein; 250, sonst den vorigen gleich, ist beweglich; Stamm 328.₃ zeigt dagegen ein sehr üppiges Wachstum und die Stämme 702.₁ und 838 unterscheiden sich durch ihre lebhaftere Beweglichkeit und das Fehlen der Nitritbildung. Also auch hier finden wir keine volle Uebereinstimmung, eine solche besteht nur gegenüber Malachitgrün und Saccharose.

Ueberblickt man auf der Tabelle II die erlangten Ergebnisse, so zeigt sich, daß sich unsere Erwartung, die untersuchten Coli-Stämme auf Grund morphologischer und kultureller Merkmale in einige Unterabteilungen bezw. Arten oder Spielarten scharf zu trennen, nicht erfüllt. Wollten wir alle gefundenen Unterschiede für die Einteilung verwerten, so würde sich eine außerordentlich große Zahl von Arten bezw. Varietäten ergeben. Nun darf aber nicht übersehen werden, daß die auf Kartoffeln, in Barsiekows Milchzuckerlösung hervorgetretenen Unterschiede im wesentlichen doch nur quantitative waren, auf die man eine Einteilung nicht zu begründen pflegt. Anders verhält es sich mit der Zerlegung der Saccharose, der Auflösung bezw. Zerstörung des Hämoglobins und der Nitritbildung, bei denen es sich um vorwiegend qualitative Unterschiede handelt, denen mit Recht bei der Differenzierung ein größerer Wert beigemessen wird. Aber auch den auf Gelatine und Lackmus-Laktoseagar makroskopisch hervorgetretenen Wachstumsdifferenzen möchte ich eine größere Bedeutung beimessen. Dieselben waren so prägnant und so konstant, zudem auf den beiden Nährböden parallel verlaufend, daß man hoffen darf, es werde der weiteren Forschung gelingen, hier noch weitere und schärfere Unterscheidungsmerkmale aufzufinden. Jedenfalls dürfte es sich aber empfehlen, beim Arbeiten mit Coli-Bakterien die einzelnen Stämme nach ihrem Verhalten auf den genannten Nährböden so lange auseinanderzuhalten, bis durch weitere Untersuchungen ihre Zusammengehörigkeit oder Verschiedenheit einwandfrei festgestellt ist.

II. Agglutination mit menschlichen Seren.

Es wurde untersucht das Verhalten der Coli-Stämme gegenüber Blutserum von Typhus- und Nichttyphuskranken, und zwar sowohl von Personen, aus denen die Stämme gewonnen waren (im folgenden „eigenes Serum“), als auch von anderen Personen, dabei sollte geprüft werden, ob die Annahme einer Mitagglutination resp. Sekundärinfektion bei Typhuskranken berechtigt ist, oder ob sich die in dieser Richtung von Vielen gemachten Befunde nicht noch anders erklären lassen können.

Tabelle

Agglutination der Coli-Stämme durch
Bei den fettgedruckten Zahlen war der Titer mit Typhusbakterien

Coli-Stamm (Buch- nummer)	Sera von Typhuskranken (Buchnummer des Serums und Endtiter in 25 Stunden oder früher)			
374 ₁	897 = 0	2253 = 0		
375 ₁	854 = 0	2253 = 0		
768 ₁		2253 = 0		
1090 ₂	1608 = 0	2253 = 0	1756 = 0	
1196 ₁	1160 = 200 +	2253 = 0	1776 = 0	
1387 ₁				
719 ₁	956 = 50 + 1 St. 1173 = 30 +	978 = 30 + 2253 = 0	1073 = 30 +	
719 ₂	854 = 100 + 1 St. 978 = 500 +	897 = 500 + 1015 = 200 + 1 St.	956 = 500 + 1 St. 2253 = 100 +	
749 ₂	956 = 50 + 1 St. 1173 = 200 +	1015 = 0 2253 = 30 +	1073 = 50 +	
906	1160 = 200 + 1756 = 30 + 2558 = 200 ++	1173 = 200 ± 1608 = 100 + 1 St. 2564 = 200 ++	2253 = 100 + 2511 = 200 ++	
2787 ₂	e. S. 2775 = 100 +	2511 = 100 +	2756 = 50 + 1 St.	
2787 ₄	e. S. 2775 = 0	2511 = 50 ±	2756 = 0	
2787 ₅	e. S. 2775 = 0	2511 = 30 ±	2756 = 0	
1196 ₁	1141 = 30 +	1160 = 50 +		
164 ₁	1608 = 30 + 1756 = 200 +	2348 = 0	1570 = 50 +	
164 ₂	1591 = 1000 ± 1756 = 30 + 1570 = 30 + 2348 = 0	1608 = 200 + 2348 = 0 1608 = 0	1687 = 200 + 1756 = 0	
167				
328	885 = 0 978 = 0	897 = 50 + 2253 = 0	956 = 0	
328 ₄	503 = 30 + 2253 = 0	897 = 50 +	1687 = 0	
466				
467 ₄	1353 = 200 + 1 St. 2348 = 30 +	1608 = 50 +	1756 = 50 +	
468	1353 = 30 +	1756 = 30 +	2253 = 0	
527		1756 = 100 +	2253 = 50 +	
535 ₂		1756 = 50 +	2253 = 0	
549		1756 = 30 +	2253 = 200 +	
549 ₁		1756 = 50 +	2253 = 50 +	
727 ₂			2253 = 0	
752				
759	1608 = 50 + 2348 = 200 + 2564 = 200 ++	1756 = 50 + 1/2 St. 2511 = 200 + 2566 = 200 +	2253 = 30 + 2558 = 100 +	
879	854 = 0	885 = 100 + 1756 = 0	897 = 0 2253 = 0	

III.

Sera Typuskranker und Nichttyphuskranker.

niedriger oder höchstens ebenso hoch. e. S. = „eigenes“ Serum.

Coli-Stamm (Buch- nummer)	Sera von Nichttyphuskranken (Buchnummer des Serums und Endtiter in 25 Stunden oder früher.)		
374. ₁	e. S. 373 = 50 + 1 St.	863 = 0	902 = 0
	881 = 50 + 1 St.	2400 = 0	2291 = 0
375. ₁	e. S. 373 = 30 + 1 St.	2400 = 0	2291 = 0
			902 = 0
768. ₁	e. S. 767 = 30 +	2400 = 0	902 = 0
	842 = 0	2291 = 0	
1090. ₂	e. S. 1089 = 100 +	2291 = 0	902 = 0
1196. ₁	e. S. 1195 = 100 + 1 St.	1217 = 0	902 = 0
	e. S. 1223 = 0	2291 = 0	
1387. ₁	e. S. 1386 = 30 +	1217 = 0	902 = 30 +
	1283 = 0	1300 = 30 +	1347 = 50 +
719. ₁	e. S. 718 = 50 +	1011 = 0	902 = 50 +
	1219 = 0	2400 = 0	2291 = 30 +
719. ₂	e. S. 718 = 100 +	881 = 50 + 1 St.	902 = 100 +
	903 = 100 +	999 = 500 +	1217 = 100 + +
	1219 = 500 +	1283 = 100 + 1 St.	1300 = 100 +
	2291 = 100 +	2400 = 100 +	
749. ₃	e. S. 718 = 0	1011 = 0	902 = 0
	1219 = 100 + + 1 St.	2400 = 0	2291 = 30 +
906	1217 = 200 +	1219 = 200 +	e. S. 902 = 100 +
	1283 = 100 +	1300 = 50 +	2291 = 50 +
	2541 = 100 + +	2567 = 50 +	
2787. ₁	2724 = 0	2764 = 50 +	902 = 0
2787. ₄	2724 = 0	2764 = 0	902 = 0
2787. ₅	2724 = 0	2764 = 0	902 = 0
1196. ₂	e. S. 1223 = 0	1217 = 0	902 = 0
	1159 = 30 +		
164. ₇	1300 = 50 +		902 = 0
164. ₅			902 = 0
167	1333 = 30 +		902 = 0
328	515 = 50 +	903 = 0	902 = 30 +
	999 = 0	2400 = 0	2291 = 0
328. ₄	1300 = 0	1386 = 100 +	902 = 10 +
	2291 = 0	2400 = 0	
466	1300 = 0	1541 = 0	902 = 30 +
467. ₂	1300 = 0	1333 = 50 +	902 = 100 +
	1541 = 50 +		
468	1448 = 50 +	2291 = 0	902 = 0
527	1300 = 0	1386 = 50 +	902 = 0
	2291 = 30 +		
535. ₂	1283 = 0	1296 = 50 +	902 = 0
	2291 = 0		
549	1217 = 30 +	1300 = 0	902 = 0
	2291 = 30 +		
549. ₁	1219 = 0	1300 = 0	902 = 30 +
	2291 = 50 +		
727. ₂	1217 = 50 + 1 St.	1283 = 100 +	902 = 50 +
	1300 = 0	2291 = 0	2400 = 0
752	1219 = 200 + 1 St.	1336 = 50 + 1 St.	902 = 0
759	1213 = 200 +	1217 = 100 +	902 = 100 +
	1219 = 100 +	1283 = 50 +	2291 = 100 +
	2400 = 200 +	2525 = 200 + +	
879	2291 = 0		902 = 0

Bei Versuchen über diese Fragen sind von Anderen Stämme der verschiedensten Herkunft geprüft und miteinander verglichen worden. Ich habe mich zwecks möglichster Einheitlichkeit auf aus Faeces und Urin Erwachsener stammende Stämme beschränkt und auf ein möglichst großes Material Wert gelegt. Bei der großen Zahl von Spielarten sind bei diesen Bakterien Zufälligkeiten so häufig, daß es nicht möglich ist, durch Prüfung von nur 10—20 Stämmen ein genügend sicheres Ergebnis zu erlangen.

Die Agglutination von Coli-Stämmen durch Blutserum 18 Typhuskranker prüfte Stern und fand, daß Typhusserum meist eine stärker agglutinierende Wirkung (bis 1:300) ausübte als normales Serum (bis 1:60). Der eigene Coli-Stamm wurde durch das Typhusserum desselben Individuums in höherer Verdünnung agglutiniert als durch eines anderen Typhuskranken. 5 Typhussera agglutinierten die Coli-Stämme stärker als einen fremden Typhusstamm; Stern nimmt dabei eine sekundäre Coli-Infektion an. Andere hatten teils ähnliche Resultate (Widal), teils nur Reaktion von Typhusserum auf dem eigenen Coli-Stamm (Mills), teils keinen Unterschied zwischen der Reaktion von Typhus- und normalem Serum (Christophers, Vedel), teils überhaupt keine Einwirkung von Typhuskrankenserum auf Coli-Bakterien (Lesage, Durham). Wenn Courmont, Vedel, Widal und Nobécourt, Johnston und Mc Taggart bei klinischem Typhus Coli-Agglutination fanden, die stärker war als die Agglutination mit Typhusbakterien, oder gar letztere fehlte, so läßt sich heute leider nicht entscheiden, inwieweit der damals unbekannte Paratyphus eine Rolle spielte. Nach Jatta verhält sich Typhusimmunserum gegen verschiedene Coli-Stämme sehr verschieden. Aut Typhusbakterien stark wirkendes Serum könne auf Coli-Bakterien unwirksam sein. Das Serum Typhuskranker könne auf *Bact. coli* stärker einwirken als normales Serum. Während Jatta dabei zwischen der Reaktion eines Serums gegen Typhusbakterien und Coli-Bakterien einen Parallelismus fand, vermißt Biberstein einen solchen; doch hat er leider mit einer zu geringen Anzahl von Stämmen gearbeitet. Schottmüller stellte bei vielen Typhusseren eine Mitagglutination von *Bact. coli* fest, wo sie für *Bact. paratyphi* fehlte. Mann hatte bei Prüfung eines Typhuskrankenserums mit einem aus der Pleura eines Typhuskranken gezüchteten Coli-Stamm eine Reaktion bis zur Verdünnung 1:1000 (mikr. Prüfung). Ascoli isolierte aus dem Darm eines Paratyphuskranken einen Coli-Stamm, welcher von dem Serum dieses Kranken ebenso hoch (1:400) agglutiniert wurde, wie ein Paratyphusstamm. Sion und Negel isolierten bei einem Typhuskranken einen Coli-Stamm, welcher, analog den Sternschen Fällen, von dem eigenen Serum höher agglutiniert wurde, als der Typhusstamm.

Die Beurteilung der Resultate bei Agglutinationsversuchen verschiedener Autoren wird durch die verschiedenen dabei angewendeten Methoden außerordentlich erschwert und Vergleiche können deshalb nur mit Vorbehalt angestellt werden. Ich habe die in dem hiesigen Institute seit Jahren geübte und als praktisch erwiesene Methode der makroskopischen Prüfung (genauer beschrieben bei Müller und Gräff) angewendet und dabei in fraglichen Fällen stets die mikroskopische Kontrolle herangezogen, wobei ich Bildung kleiner Häufchen als positiv annahm, allerdings nicht so extrem, wie die von Stern angesetzte Norm der 4-Bakterienhäufchen lautet. Die Besichtigung geschah erstmals nach $\frac{1}{2}$ —1 Stunde, zum zweitenmal nach 2 Stunden. Später eintretende Agglutination, welche übrigens selten war, wurde nicht notiert. Meistens fand ich sogar, daß nach 1 Stunde keine wesentliche Erhöhung des Endtiters mehr eintrat. In der Tabelle III habe ich nur Höhe und Stärke des Endtiters angegeben; es wäre zu viel geworden, die mitunter viel kräftigere und früher auftretende Reaktion niederer Verdünnungen, sowie gelegentlich auftretende Hemmungszonen aufzuführen. Selbstverständlich wurde bei jeder Prüfung eine Kontrolle mit angesetzt, indem die Bakterienaufschwemmung ohne Serumzusatz in den Brutschrank gestellt wurde. In 3—4 Fällen zeigte auch die Kontrolle Pseudoagglutination, und wurde dann das Ergebnis natürlich nicht verwendet.

Im ganzen kamen 139 verschiedene Stämme und 80 verschiedene

Sera zur Verwendung. Von letzteren stammen 31 (= 39 Proz.) von Typhuskranken, d. h. solchen, deren Serum Typhusbakterien mindestens in der Verdünnung 1:100 agglutiniert hatte. Alle übrigen Sera, zum Teil wohl von Typhusverdächtigen stammend, hatten Typhusbakterien selbst nicht in der Verdünnung 1:30 agglutiniert. Mit jedem Stamm wurden mindestens 3 verschiedene Sera zusammengebracht, mit jedem, bei welchem eine positive Reaktion auftrat (nur letztere sind in Tab. III aufgenommen), mindestens 6, in besonderen Fällen mehr. Dabei war ich in der Lage, ein Serum (902) auf jeden einzelnen Stamm anwenden zu können, welches von einer erst bei der Autopsie sicher diagnostizierten Sepsis ohne bakteriologischen Blutbefund stammte. Im ganzen umfaßt mein Material 530 Agglutinationsprüfungen, von welchen, wie ich Übersichtshalber vorwegnehme, 130 (= 24,7 Proz.) positiv ausfielen.

Für die Prüfung von Coli-Stämmen mit „eigenem Serum“ von Typhuskranken standen mir 4 Sera zur Verfügung. 3 dieser Sera wirkten auf je 1 aus demselben Kranken gezüchteten Stamm nicht ein. Auf diesen übten auch andere Sera keine Wirkung aus. Das 4. Serum gab mit einem (2787₂) von den 5 aus dem betreffenden Stuhl isolierten Coli-Stämmen eine Reaktion, mit den anderen 4 nicht. 2 von diesen wurden allerdings durch das Serum eines anderen Typhuskranken schwach agglutiniert. Jener eine Stamm wurde außerdem von 2 Typhus- und 1 Nichttyphusserum agglutiniert. 18 Nichttyphussera, d. h. Sera, welche Typhusbakterien nicht agglutiniert hatten, wurden mit einem oder mehreren aus dem das Serum hergebenden Individuum isolierten Stämmen geprüft, und bei 9 Stämmen aus 7 Individuen Agglutination bis zur Verdünnung 1:100 gefunden. Die Reaktion ging in keinem Falle bis zur Klärung der Flüssigkeit, zeigte aber stets eine makroskopisch deutliche Ausflockung. Es agglutinierten also von 22 mit dem „eigenen Stamm“ angesetzten Seren 8 (= 36 Proz.), darunter 1 Typhusserum. Da 4 Sera von Typhuskranken stammten, war nach dem Prozentverhältnis wenigstens von einem Serum positive Reaktion zu erwarten. Dies war auch der Fall, aber nicht mehr, und man kann, wenn auch die Zahlen keine großen sind, mindestens nicht sagen, daß Coli-Bakterien vom „eigenen Serum“ bei Typhuskranken leichter agglutiniert werden als bei Nichttyphuskranken. Von jenen 9 Stämmen, mit fremden Seren teils Typhuskranker teils anderer, auch Gesunder, geprüft, blieben 3 Stämme reaktionslos; die übrigen 6 verhielten sich jedoch anders, zum Teil sehr auffallend.

Zunächst noch einige Worte über die genannten drei nur vom eigenen Serum agglutinierten Stämme 375₁, 768₁, 1090₂. Alle drei waren aus verschiedenen Personen isoliert, aus welchen ich noch andere Stämme ohne Agglutination besaß. Der Gedanke, daß Stämme aus demselben Individuum, falls sie kulturell gleich sind, sich auch in Betreff der Serumreaktion gleich verhalten, wenn sie aber kulturell verschieden, sich auch hier verschieden zeigen, liegt nahe. Die Stämme 1090₁ und 1090₂ (Tab. II, Typ. 39) stimmen nun so durchaus überein, daß man sie für denselben 2mal nebeneinander isolierten Stamm halten möchte. Dennoch bleibt 1090₁ ohne Reaktion, 1090₂ dagegen gibt nicht etwa eine schwach angedeutete, die aus technischer Unzulänglichkeit hätte bei dem Bruderstamm übersehen werden können, sondern eine Agglutination bis 1:100 innerhalb 1 Stunde. Ein Bruderstamm zu 768₁ verhält sich von diesem kulturell verschieden (Tab. II, Typ. 28 und 29), auch möchte hier die schwächere Agglutination (1:30) weniger aussagen. Dagegen stammen die Stämme 374₁ und 375₁ aus

einer Person, sind kulturell durchaus verschieden (Tab. II, Typ. 41 und 1), geben aber trotzdem beide positive Reaktion, während zwei, andere Stämme aus derselben Quelle, ebenfalls kulturell verschieden, unbeeinflusst bleiben. Das sind Ergebnisse, welche der Spezifität der Agglutination bei *Bact. coli* einen bedenklichen Stoß zu versetzen scheinen. Stamm 374₁ reagierte außerdem noch auf ein anderes Serum von einem Nichttyphuskranken in derselben Höhe wie auf das eigene.

Von den übrigen 6 Stämmen ist 1196₁ hervorzuheben, welcher außer von dem eigenen Serum in der Verdünnung 1:100 in 1 Stunde von einem anderen, einem Typhuskrankenserum, in höherer Verdünnung agglutiniert wurde. Das dabei verwendete Typhusserum hatte Typhusbakterien nur in der Verdünnung 1:50 agglutiniert, so daß die Forderung eines hochwertigen Typhusserums nicht erfüllt ist und von einem Parallelismus (Jatta) jedenfalls nicht die Rede sein kann. Ein Bruderstamm 1196₂ wurde vom eigenen Serum nicht agglutiniert, dagegen von einem fremden Nichttyphusserum und 2 Typhusseren. Auf einen anderen, vom eigenen Serum 1:30 agglutinierten Stamm, 1387₁, reagierten drei fremde Nichttyphussera ebenfalls, und zwar eines davon höher als das eigene (1:50).

Ganz besonders auffallend war aber der Befund bei den 3 Stämmen 719 (vgl. Tab. III). Sie stammten aus dem Darne eines nicht fiebernden, nach Angabe des behandelnden Arztes an chronischer Enteritis leidenden Mannes, bei welchem kein Typhusverdacht bestand. 719₂ und 719₃ waren kulturell gleich, 719₁ von ihnen etwas verschieden (Tab. II, Typ. 1 und 33). Das eigene Serum agglutinierte die Stämme 719₁ und 719₂ in Verdünnungen 1:50 bzw. 1:100. Mit anderen Seren angesetzt, welche Typhusbakterien teils agglutiniert hatten teils nicht, wurde 719₁ sowohl von diesen als von jenen einigemal agglutiniert, nie jedoch höher als vom eigenen Serum. Anders 719₃. Hier konnte ich Seren jeder Art anwenden, von Typhuskranken, von anderen Kranken oder von Gesunden, stets trat eine sehr deutliche Agglutination ein, die oft bis zu 1:500 ging und nur einmal unter dem Endtiter des eigenen Serums blieb. So prüfte ich schließlich 17 Seren mit diesem Stamme durch, immer mit demselben prompten Resultate. Hier stand ich also vor der auffallenden Tatsache, daß schlechthin jedes Serum eines erwachsenen Menschen den Stamm agglutinierte¹⁾. Mehr noch. Typhusimmunziegenserum agglutinierte bis 1:200, Paratyphus B-Immunziegenserum 1:50. Man könnte dies ja als Mitagglutination auffassen, jedoch auch normales Serum zweier Kaninchen agglutinierte in den Verdünnungen 1:30 und 1:50 in ausgeprägter Form. Ich bemerke nochmals ausdrücklich, daß die immer angestellten Kontrollen mit physiologischer NaCl-Lösung völlig frei blieben, auch bei mikroskopischer Prüfung. Dagegen war der dritte Stamm, 719₃, vom eigenen Serum nicht agglutiniert worden, doch wurde auch er von einigen fremden Seren, sei es von Typhuskranken oder nicht, und zwar bis zu 1:200 agglutiniert. 719 ist also ein Individuum, welches in seinem Darne unter sich verschiedene Coli-Bakterien beherbergt, welche alle leicht agglutinabel sind, von denen einer sogar in jedem menschlichen und auch in Tierseren für ihn eingestellte Agglutinine findet.

Aus einer weiteren Person, jenem hochfieberhaften Falle, aus dem

1) Nachträglich finde ich in der soeben erschienenen Arbeit Klienebergers die Notiz, daß es Stämme gäbe, welche von jedem Serum agglutiniert werden.

das Serum 902 stammte, wurde nochmals ein solcher Stamm, 906, isoliert, welcher von jedem der verwendeten 16 Sera agglutiniert wurde und zwar vom eigenen Serum, 902, bis 1:100, von den übrigen größtenteils bis 1:200. Auch hier zeigt sich also wieder, daß die Meinung, ein Coli-Stamm werde vom Serum des eigenen Trägers am höchsten agglutiniert, falsch ist. Kulturell ist der Stamm mit 719₂ nicht identisch. Auch aus diesem Individuum habe ich noch 2 andere Stämme. Einer, 906₁, ist aus demselben Stuhle isoliert, der andere, 838, etwa 8 Tage früher. Beide sind kulturell mit 906 nicht identisch (Tab. II, Typ. 13, 26, 17) und wurden von keinem Serum agglutiniert. Wenn es also bei 719 den Anschein hat, als seien in einem solchen Falle alle Stämme aus demselben Individuum oder wenigstens aus demselben Stuhl mehr oder weniger leicht agglutinabel, so sehen wir, daß hier agglutinable und inagglutinable Stämme nebeneinander vorkommen.

Außer 719₂ und den oben erwähnten 2787₁ und 2787₂ existiert noch ein anderer Stamm, 1196₂, welcher nicht vom eigenen, wohl aber von fremden Seren agglutiniert wurde. Zwei Typhusseren und ein Nichttyphusserum agglutinierten ihn bis zu 1:50.

Die übrigen 15 Stämme, zu welchen mir „eigenes Serum“ zur Verfügung stand, wurden weder von diesem noch von fremden Serum agglutiniert.

Um durch ein zahlreicheres Material ein besseres Urteil zu gewinnen, prüfte ich noch über 100 Stämme mit fremdem Serum. Von diesen fiel die Reaktion bei 17 positiv aus, und zwar bei fast allen gegenüber mehr als einem Serum. Mehrere dieser Stämme waren sogar fast allen geprüften Seren zugänglich. Hervorzuheben ist unter diesen Stamm 467₄, welcher von 7 der angewendeten 8 Seren agglutiniert wurde, während dies bei 2 anderen aus demselben Individuum isolierten kein einziges Mal geschah, obwohl auf sie vorwiegend dieselben Sera in Anwendung kamen. Es zeigte sich dabei, daß Typhus- oder andere Seren ziemlich wahllos sich positiv oder negativ verhielten, und daß bei jenen der Endtiter gegenüber Typhusbakterien mehrmals niedriger war als gegen den Coli-Stamm. Noch ein drittes Mal stieß ich dabei auf einen Stamm (759), welcher von jedem Serum agglutiniert wurde, oft bis zu 1:200. Er stammte von einem fiebernden Kranken, von dem ich die endgültige Diagnose nicht erfahren habe.

Zusammenfassend, isolierte ich also aus 3 verschiedenen Personen 3 Stämme, welche von jedem Serum agglutiniert wurden. Dieser Befund ist von Wichtigkeit. Die Annahme ist völlig ausgeschlossen, daß diese Stämme ehemals zu allen den zur Prüfung verwendeten Seren durch Passage des betreffenden Individuums in Beziehung gestanden haben, zumal diese 3 Stämme wiederum unter sich verschieden sind. Dann müßten sie so häufig vorkommen, daß sie nicht nur in 2 Proz. der Fälle isoliert würden, wie hier. Sodann wäre mit dieser Annahme auch immer noch nicht der positive Ausfall mit dem normalen Kaninchenserum erklärt. Es ist vielmehr evident, daß jedes Blutserum Substanzen besitzt, welche bestimmte Coli-Stämme agglutinieren können; es bedarf gewissermaßen nur einer Labilität des betreffenden Stammes. Es ist auch gar nicht nötig, sowohl in diesen Fällen als bei Typhuserkrankungen, bei welchen *Bact. coli* höher agglutiniert wird als *Bact. typhi*, eine sekundäre Infektion anzunehmen, wie dies Stern tat, denn auch wenn ich die Reaktion durch das eigene Serum unberück-

sichtigt lasse, bleibt immer noch die bei allen 3 Stämmen mit vielen Seren vielfach höhere resp. stärkere Reaktion bestehen, auch so, daß Typhussera diese Stämme höher als Typhusbakterien agglutinierten. Werden also bei einem Typhuskranken Coli-Bakterien isoliert, welche vom Serum des Kranken höher agglutiniert werden, so kann dies immer ein diesen drei analoger Stamm sein. Von Mitagglutination kann natürlich erst recht nicht die Rede sein, deren Voraussetzung es doch ist, daß ein auf den mitagglutinierten Stamm einwirkendes Serum andere Bacillen in höherem Grade agglutiniert. Bei meinen Fällen war aber oft genug die Reaktion gegenüber *Bact. coli* höher als gegen *Bact. typhi*.

Auf die Frage: „Bestehen Unterschiede in der Wirkung auf *Bact. coli* zwischen Seren Typhöser einerseits und Nichttyphöser andererseits?“ geben meine Resultate klare Antwort. Die Tabelle III zeigt in beiden Spalten so gut wie gleichmäßig verteilt positive und negative Resultate. Außerdem wurden aber noch alle negativen, tabellarisch nicht aufgeführten Stämme möglichst gleichmäßig mit Typhus- und Nichttyphusserum geprüft. Im ganzen waren von 530 Agglutinationsprüfungen 130 (= 25 Proz.) positiv. Von den verwendeten 80 Seren stammten 35 (= 44 Proz.) von Typhuskranken. 22mal stand mir zum Serum einer oder mehrere „eigene“ Coli-Stämme zur Verfügung. 25 Sera agglutinierten nicht; doch ist darauf kein Wert zu legen, da sie nicht mit einem der leicht agglutinablen Stämme zusammengebracht worden waren. Von den verwendeten Typhusseren agglutinierten 25 (= 71 Proz.), von Nichttyphusseren 30 (= 67 Proz.), an sich ein geringfügiger Unterschied, der auch zumal deswegen nicht von Bedeutung ist, weil es zunächst dem Zufall anheimgestellt war, ob ein Serum mit agglutinablen oder inagglutinablen Stämmen angesetzt wurde. Es ergibt sich vor allem aus diesen Zahlen, daß Typhussera als solche keine oder höchstens geringe Steigerung der Wirkung auf Coli-Stämme haben. Wenn Andere eine solche gefunden haben, so dürfte sich das am wahrscheinlichsten so erklären, daß leicht agglutinable Stämme zum Versuche kamen, welche vielleicht von demselben Serum vor der Typhuserkrankung ebenso agglutiniert worden wären. Ja, es ist sogar mit Bestimmtheit zu erwarten, daß ab und zu solche Befunde gemacht werden, da bei mir doch immerhin bei 25 Proz. der untersuchten Stämme positiver Ausfall festgestellt wurde.

Es unterliegt demnach keinem Zweifel, daß derjenige, welcher lediglich in der Eigenschaft des Serums und in den Beziehungen seines Trägers zum *Bact. coli* oder seinen Verwandten eine Erklärung für die zahlreichen und verschiedenartigen Resultate sucht, nie zum gewünschten Ziel kommen wird. Nach meinen Ergebnissen betrachte ich es als meine Aufgabe, die Rolle, welche das Bakterium bei dem Agglutinationsvorgang spielt, zu betonen. Vergleicht man unter diesem Gesichtspunkte alle bisher gemachten Erfahrungen, so lösen sich die scheinbaren Wider-

Tabelle IV.

		davon positive Reaktion
Sera wurden im ganzen geprüft	80	55 = 69 Proz.
Sera wurden nur mit fremden Stämmen geprüft	58	47 = 82 „
„Eigene Sera“ wurden geprüft	22	8 = 36 „
Stämme wurden im ganzen geprüft	139	30 = 22 „
Stämme nur mit fremdem Serum geprüft	98	22 = 22 „
Stämme nur mit „eigenem Serum“ geprüft	41	8 = 19 „

sprüche völlig auf mit der Kenntnis, daß sich die Bakterien der Coli-Gruppe bezüglich ihrer Agglutinabilität außerordentlich verschieden verhalten.

Auffallend war mir, daß nur 8 (= 36 Proz.) der 22 verwendeten „eigenen Sera“ eine agglutinierende Wirkung ausübten (gegenüber 69 Proz. aller Sera), während doch Stern, Widal u. A. hervorheben, daß der eigene Coli-Stamm ausschließlich oder wenigstens höher agglutiniert werde als fremde Stämme. Demnach wäre also zu erwarten gewesen, daß der Prozentsatz der positiven Reaktion bei den „eigenen Seren“ größer gewesen wäre als bei allen Seren zusammen, statt dessen ist er jedoch nur halb so groß. Auch der Prozentsatz der agglutinierten „eigenen Stämme“ erreicht den der überhaupt agglutinierten Stämme nicht ganz, obwohl sich unter diesen zwei stets agglutinierte befinden. Auch in der Höhe des Endtiters besteht für die Agglutination eines Stammes mit dem „eigenen Serum“ kein Vorrecht, so daß ich mich jener Anschauung nicht anschließen kann.

III. Agglutinationsversuche mit Coli-Kaninchenserum.

Einteilungsversuche mittels des Serums vorbehandelter Tiere machten H. Lee Smith bei Säuglingen, Kreisel bei Erwachsenen, beide mit dem Resultate, daß Meer-schweinchenimmunsrum kulturell gleiche Stämme nur agglutiniert, wenn diese aus demselben Individuum stammen. Jatta, Achard, Sidney Wolf, Mann, Pfandler, Cany, Rothberger, v. d. Velde u. A. stellten in zahlreichen, zum Teil recht verschieden ausgeführten Versuchen fest, daß von dem Immunsrum ausschließlich oder vorwiegend das zur Immunisierung verwendete Bakterium agglutiniert wurde. Zur Immunisierung wurden Meerschweinchen, Kaninchen, Hunde, Schafe, Ziegen und Pferde verwendet. Auf die Resultate und die Technik im einzelnen einzugehen, erlaubt mir der Raum nicht. Auseinandergehend sind im wesentlichen nur die aus ähnlichen Resultaten gezogenen Schlüsse, indem einerseits die Möglichkeit, durch Agglutination bestimmte Coli-Typen zu umgrenzen, in Abrede gestellt wird (Pfandler, Rothberger), während andererseits das verschiedene Verhalten gegenüber den Seren bei kulturell gleichen Stämmen für ein weiteres Differenzierungsmittel gehalten wird (Radziewsky, Bruns und Kayser).

Meine Technik war folgende: Von einer ca. 15 Stunden alten Agarkultur wurde eine Normalöse (1,4 mg) voll in 1 ccm physiologischer Kochsalzlösung gut verrieben und durch 1-stündiges Erhitzen auf 70° C abgetötet. Anfangs kontrollierte ich die Wirkung der Erhitzung durch Aussaat auf Agar. Er blieb steril. Ich injizierte die Menge einem Kaninchen in die Ohrvene; war keine wesentliche Gewichtsabnahme zu verzeichnen, so injizierte ich nach 4–6 Tagen 3 Normalösen in 1 ccm Kochsalzlösung, auf dieselbe Weise abgetötet. Abermals nach etwa 6 Tagen unter denselben Bedingungen 6 Oesen. Darauf wurde nach 4–6 Tagen eine Blutprobe entnommen und mit dem Immunisierungstamm zur Agglutination angesetzt. Ich stieg dann mit den Dosen zu $\frac{1}{2}$ Kultur, 1 Kultur, dann 1 Oese lebender Bakterien etc., sofern ich überhaupt soweit kam.

Leider hatte ich nämlich etwas Unglück mit diesen Versuchen, da in dieser Zeit eine eigenartige Seuche viele Tiere unter langsamer Abmagerung und Gewichtsverlusten fast ausnahmslos zum Tode brachte. Ich kann bei denjenigen Tieren, die an der Seuche erkrankt waren, nicht für die Einwandfreiheit der Versuche bürgen, jedoch stelle ich fest, erstens, daß einigermaßen bedeutende Gewichtsabnahme mit einer Ausnahme nur bei diesen Tieren stattfand, zweitens, daß die Schwierigkeit resp. Unmöglichkeit, einen brauchbaren Titer zu erlangen, nicht auf die von der Seuche befallenen beschränkt war. In der Tat, wenn Achard (zitiert nach Jatta) bei 8 Tieren 5mal negativen Erfolg hatte, so deckt sich dies annähernd mit meinen Ergebnissen.

Ich verwendete 8 Kaninchen und bekam nur 3mal einen Titer über 1:100. Dies war der Fall bei 2 Stämmen, welche sich bei den Prüfungen mit menschlichem Serum als äußerst leicht agglutinabel zeigten. Ich bin geneigt, anzunehmen, nicht daß eine große Menge von Agglutininen in dem Kaninchenserum gebildet wurden, sondern daß diese Stämme schon mit einer sehr geringen Menge von Agglutininen eine kräftige

Reaktion geben. Dieselbe Eigenschaft würde sie auch befähigen, von menschlichem Serum beeinflusst zu werden, das, wie ja auch die große Zahl der inagglutinablen zeigt, nur minimale Mengen von Coli-Agglutinin enthält.

Ich gebe in folgendem kurz die Resultate mit den 8 Tieren:

Kaninchen 1, immunisiert mit Stamm 328., nach der dritten Dosis Agglutination 1:30, nach Erreichung einer Dosis von einer ganzen Kultur 1:100. Von da an ging der Titer nicht höher. Keine wesentlichen Gewichtsschwankungen.

Kaninchen 2, immunisiert mit Stamm 164., hatte einen dem von Massini beschriebenen ähnlichen Kollaps (nicht Embolie) und ging ein.

Kaninchen 3 und 4, immunisiert mit Stamm 517., und 519., gingen nach wenigen Injektionen, ohne daß das Serum den benutzten Stamm agglutinierte, an der Seuche ein.

Kaninchen 5, immunisiert mit Stamm 719., nach der zweiten Injektion Titer 1:5000, nach der dritten 1:20000, ohne Gewichtsschwankungen.

Kaninchen 6, immunisiert mit Stamm 603., seuchenkrank, erholte sich und erreichte einen Titer von 2000.

Kaninchen 7, immunisiert mit Stamm 467., nach 2 Injektionen Agglutination 1:2000, wegen steter Gewichtsabnahme nicht weiter behandelt. Tod an unbekannter Ursache. Agglutination 3 Wochen nach der letzten Injektion 1:5000.

Kaninchen 8, immunisiert mit Stamm 154., Agglutination ging nicht höher als bis zu 1:50.

Hervorzuheben sind also besonders die Sera der Kaninchen 5 und 7. Ersteres agglutinierte den zur Immunisierung verwendeten leicht agglutinablen Stamm 719. innerhalb 2 Stunden bis zur Verdünnung 1:20 000. Mit diesem Serum prüfte ich sämtliche anderen Coli-Stämme und fand eine Einwirkung nur auf 18 Stämme. Stamm 719. ist mit 8 anderen Stämmen kulturell identisch (Tab. II, Typ. 1), wovon 4 durch menschliche Sera agglutiniert worden waren. Nur einer von diesen 8 Stämmen wurde durch das Kaninchenserum agglutiniert, und zwar in der Höhe 1:30. Es war Stamm 701, einer von jenen, die von keinem menschlichen Serum agglutiniert worden waren. Die Reaktion 1:30 seitens eines Serums mit dem Titer 1:20 000 ist wohl auch kaum verwendbar. Von den übrigen Stämmen wurden noch 17 schwach agglutiniert, und zwar Stamm 879 (Typ. 8 der Tab. II) bis 1:500, sonst keiner über, die meisten unter 200. Von diesen 17 war die Hälfte von menschlichen Seren agglutiniert worden. Unter sich gehörten sie kulturell sehr verschiedenen Typen der Tab. II an.

Dieses Resultat erweist einerseits die Richtigkeit der gewöhnlich gemachten Erfahrung, daß ein zur Immunisierung verwendeter Coli-Stamm von dem Immunserum unvergleichlich höher agglutiniert wird, als alle anderen Coli-Stämme. Ferner wirkt das Immunserum nicht auf die mit dem Immunisierungstamm kulturell gleichen Stämme kräftiger ein als auf andere. Vielmehr können kulturell ganz verschiedene Stämme agglutiniert werden, während bei kulturell gleichen die Reaktion ausbleiben kann.

Das Ergebnis mit einem einzigen Serum könnte einseitig sein. Ich prüfte deshalb ebenfalls alle 139 Stämme mit dem Serum des Kaninchens 7 mit Titer 1:5000 gegenüber dem Immunisierungstamm 467. Stamm 467. gehört dem Typ. 17 der Tab. II an, in welcher sich 15 ihm identische Stämme befinden. Von diesen wurde nur einer, und zwar der leicht agglutinable Stamm 906, agglutiniert in der Verdünnung 1:1000. Dieses ist der einzige Fall, in dem eine gewisse Uebereinstimmung zwischen kulturellen und seroreaktiven Eigenschaften vorliegt. Jedoch bedenke man, daß 906 leicht agglutinabel ist. Dazu sind die Chancen bei 2-facher Durchprüfung von 139 Stämmen groß genug, um auch einmal eine zufällige Uebereinstimmung auftreten zu lassen.

Außer diesem einen reagierten nur noch 6 durchaus verschiedene Stämme höchstens bis zu 1:100. Es sind also im wesentlichen dieselben Resultate wie bei 719.₂.

Das Kaninchen 6 war behandelt mit Stamm 603.₁, einem der 5 Stämme, die auf Gelatine das eigentümlich gefaltete Wachstum gezeigt hatten. Ich prüfte deshalb dieses Serum (Titer 2000) nur mit den 4 Stämmen, welche ehemals ebenso gewachsen waren. Einer davon reagierte bis zur Verdünnung 1:100, die anderen nicht, so daß ein Unterschied gegenüber den obigen Erfahrungen nicht zu erwarten war und ich eine Prüfung dieses Serums mit allen Stämmen unterließ.

Nach diesen Ergebnissen kann also von einem weiteren Differenzierungsmittel in Form der Serumreaktion mit Immunsereen nicht die Rede sein, denn es wird wohl niemand auf den Gedanken kommen, jenen Stamm des 1. Typus der Tab. II mit Reaktion 1:30 von den übrigen deshalb als einzigen mit 719.₂ in eine Gruppe gehörigen abzutrennen, und ebensowenig beim Typus 17. Es waren ja immerhin auch eine ganze Anzahl von kulturell verschiedenen Stämmen, auf welche die Immunsere eine mäßige Einwirkung ausübten.

Ich fasse meine **Ergebnisse** in folgenden Sätzen zusammen:

1) Meine Versuche, die zur sogenannten Coli-Gruppe zählenden Bakterien auf Grund morphologischer sowie biologischer Merkmale in einzelne Unterabteilungen, Arten bzw. Unter- oder Spielarten zu trennen, haben zwar nicht das erwartete Ergebnis geliefert, indes sind doch bei der Züchtung der 139 Stämme auf Gelatine, Milchzucker- resp. Saccharose-Lackmusagar und Blutagar, sowie bezüglich der Nitratbildung so erhebliche und zudem konstante Unterschiede hervorgetreten, daß ich die Hoffnung, es möge weiterer Forschung gelingen, schärfere Trennungsmerkmale zu finden, zunächst nicht aufgeben, vielmehr empfehlen möchte, beim Arbeiten mit den hierher gehörigen Bakterien die genannten Nährböden zur vorläufigen Auseinanderhaltung einzelner Typen heranzuziehen.

2) In einem Darms kommen zu gleicher Zeit kulturell verschiedene Coli-Spielarten vor.

3) Etwa 25 Proz. aller im Erwachsenen vorkommenden Coli-Bakterien werden vom Serum derselben Person oder von fremden Seren mindestens in der Verdünnung 1:30 agglutiniert.

4) Es gibt Coli-Stämme, welche von den meisten oder allen Blutseren in erheblicher Höhe agglutiniert werden. Dessen muß man bei Anwendung der Serumreaktion, wenn Coli-Infektion oder Mitagglutination in Frage kommt, eingedenk sein.

5) Durch die Serumreaktion werden mitunter kulturell gleiche Coli-Stämme getrennt, aber auch kulturell verschiedene zusammengeführt. Sie ist also zur weiteren Differenzierung nicht geeignet.

6) Coli-Stämme aus demselben Stuhl können sich bezüglich der Agglutination verschieden verhalten, selbst wenn sie sich kulturell gleichen.

7) Coli-Stämme verhalten sich gegenüber dem eigenen Serum nicht anders als gegenüber fremdem. Ist ein Stamm leicht agglutinabel, so kann er von einem fremden Serum höher agglutiniert werden als von dem eigenen.

8) Es spielt keine oder höchstens eine untergeordnete Rolle, ob ein mit *Bacterium coli* zusammengebrachtes Serum von einem Typhuskranken stammt oder nicht.

9) Der wesentliche Faktor ist also die Agglutinabilität des Stammes. Praktisch wird deshalb die Agglutinationsprüfung eines Stammes für die Diagnose einer Coli-Infektion wenig Wert haben.

10) Die Erlangung eines das Bact. coli stärker agglutinierenden Kaninchenserums ist meistens schwierig. Gelingt sie jedoch bei einem Stamme, so ist die Reaktion fast ausschließlich auf diesen beschränkt. Nur wenige andere Stämme, welche keineswegs kulturell mit dem Immunisierungsstamm übereinzustimmen brauchen, werden von diesem Immunserum agglutiniert, aber meist nur in weit stärkerer Konzentration.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem hochverehrten Lehrer und Chef, Herrn Geheimrat Prof. B. Fischer, für die gütige Ueberlassung des Materials wie für das freundliche Interesse aufrichtigen Dank auszusprechen. Auch Herrn Dr. R. Müller bin ich für manchen anregenden Wink Dank schuldig.

Literatur.

- Ascoli, Zur Frage des Paratyphus. (Zeitschr. f. klin. Med. Bd. XLVIII. 1903. Heft 5–6. — Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. p. 723.)
- Biberstein, Beiträge zur Serodiagnostik des Abdominaltyphus. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVII. 1898. p. 347.)
- Bjelaëff, Ueber einige biochemische Eigenschaften der Coli-Bacillengruppe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIII. 1903. p. 513.)
- Bruns u. Kayser, Ueber die Verwertbarkeit des Agglutinationsphänomens zur klinischen Diagnose und zur Identifizierung von Bakterien der Typhus-Coli-Gruppe (Paratyphus etc.) (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 401.)
- Buxton, B. H., A comparative study of the bacilli intermediate between B. coli commune and B. typhosus. (Journ. of med. Research. Vol. VIII. 1902. p. 201. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXII. 1903. p. 719.)
- Cany, Les races colibacillaires. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 769.)
- Conradi, v. Drigalski u. Jürgens, Ueber eine unter dem Bilde des Typhus verlaufende, durch einen besonderen Erreger bedingte Epidemie. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII. 1903. p. 141.)
- Courmont, Soc. de biol. 1896. Ref. Semaine méd. 1896. No. 37.
- Deeleman, Vergleichende Untersuchungen über Coli-ähnliche Bakterienarten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXVI. 1899. p. 501 ff.)
- Di Donna, A., Sull' agglutinamento del Bact. coli. (Ann. d'Igiene sperimentale. 1902. Fasc. 4. Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Ref. Bd. XXXIV. 1904. p. 581.)
- Ehrenfest, Studien über die „Bacterium coli-ähnlichen“ Mikroorganismen normaler menschlicher Faeces. (Arch. f. Hyg. Bd. XXVI. 1896. p. 369.)
- Escherich u. Pfandl, Bacterium coli commune. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. II. 1903. p. 334.)
- Gräf, Zur bakteriologischen Typhusdiagnose. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. 1906. p. 201.)
- Jatta, Experimentelle Untersuchungen über die Agglutination des Typhusbacillus und der Mikroorganismen der Coli-Gruppe. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIII. 1900. p. 185.)
- Jürgens, Beobachtungen über die Widalsche Reaktion und die Mitagglutination der Typhoidbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. p. 372.)
- , Ueber typhusähnliche Bakterien. (Dtsche med. Wochenschr. 1907. No. 1. p. 4.)
- Klieneberger, Studien über Coli-Agglutinine, unter besonderer Berücksichtigung der klinischen Verwertung von Coli-Agglutinin. (Dtschs Arch. f. klin. Med. Bd. XC. 1907. p. 267.)
- Klinger, Beitrag zum v. Drigalski-Conradischen Verfahren des Typhusbacillennachweises und zur Identifizierung typhusverdächtiger Bacillen durch die Agglutinationsprobe. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 542.)
- Köhler u. Scheffler, Die Agglutination von Fäkalbakterien bei Typhus durch das Blutserum. (Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 22/23. p. 757.)
- Lesage, Contribution à l'étude des entérites infantiles, sérodiagnostic des races du Bacterium coli. (Compt. rend. de la soc. de biol. 1897. p. 900.)

- Loeffler u. Abel, Ueber die spezifischen Eigenschaften der Schutzkörper im Blute typhus- und coli-immuner Tiere. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIX. 1896. p. 51.)
- Mann, Beiträge zur Frage der spezifischen Wirkung der Immunsera. (Arch. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1899. p. 179.)
- Massini, Ueber einen in biologischer Beziehung interessanten Colistamm. (Arch. f. Hyg. Bd. LXI. 1907. p. 286.)
- Megele, Widalsche Serumreaktion bei Leberabsceß. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 14. p. 598.)
- Müller u. Gräf, Wert der Blutuntersuchung für die Typhusdiagnose. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. 1907. p. 869.)
- Paltauf, Die Agglutination. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorganismen. Bd. IV. 1904. p. 645.)
- Pfaundler, Eine neue Form der Serumreaktion auf Coli- und Proteusbacillosten. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXIII. 1898. p. 9.)
- , Spezielle Immunitätslehre betr. Bacterium coli. (Kolle u. Wassermanns Handb. d. pathog. Mikroorg. Bd. IV. 1904. p. 905.)
- Posselt u. Sagasser, Ueber Beeinflussung der Agglutinine durch spezifische Absorptionen, nebst Bemerkungen über den Wert der Serodiagnostik bei Typhus und Dysenterie. (Wien. klin. Wochenschr. 1903. No. 24. Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXXIV. 1904. p. 76.)
- Radziewsky, Beitrag zur Kenntnis des Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1900. p. 369.)
- Rothberger, Ueber Agglutination des Bact. coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1900. p. 79.)
- Scheffler, Das Neutralrot als Hilfsmittel zur Diagnose des Bact. coli. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXVIII. 1900. p. 199.)
- Schottmüller, Die Artunterscheidung der für den Menschen pathogenen Streptokokken durch Blutagar. (Münch. med. Wochenschr. 1903. No. 20 u. 21.)
- , Ueber eine das Bild des Typhus bietende Erkrankung, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen. (Dtsche med. Wochenschr. 1900. p. 511.)
- , Weitere Mitteilungen über mehrere das Bild des Typhus bietende Krankheitsfälle, hervorgerufen durch typhusähnliche Bacillen (Paratyphus). (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVI. 1901. p. 368.)
- Sion u. Negel, Ueber eine von einem atypischen Coli-Bacillus veranlaßte typhusähnliche Hausepidemie hydrischen Ursprungs. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXII. 1902. p. 481.)
- Smith, H. Lee, Zur Kenntnis der Coli-Bacillen des Säuglings. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899. p. 689.)
- Smith, Th., Einige Bemerkungen über Säure- und Alkalibildung bei Bakterien. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. VIII. 1890. p. 389.)
- , The fermentation tube, with special reference to anaerobiosis and gasproduction among bacteria. (Ref. Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XIV. 1893. p. 864.)
- Stern, Ueber Fehlerquellen der Serodiagnostik. (Berl. klin. Wochenschr. 1897. No. 11 u. 12.)
- , Typhusserum und Coli-Bacillen. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Bd. XXIII. 1898. p. 673.)
- , Ueber den Wert der Agglutination für die Diagnose des Abdominaltyphus. (Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 30 u. 31. p. 681.)
- Sternberg, Zur Verwertbarkeit der Agglutination für die Diagnose der Typhusbacillen. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. 1900. p. 349.)
- Totsuka, Studien über Bacterium coli. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLV. 1903. p. 115.)
- Van de Velde, Essai de l'agglutination vis-à-vis 25 variétés de colibacilles. (Bull. de l'acad. de Belgique: 1897.)
- Wassermann u. Ostertag, Ueber polyvalente (multipartiale) Sera etc. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLVII. 1904. p. 416.)
- Wolf, Sidney, Beiträge zur Lehre der Agglutination, mit besonderer Bezugnahme auf die Differenzierung der Coli- und Proteusgruppe und auf die Mischinfektion. (Centralbl. f. Bakt. etc. Bd. XXV. 1899. p. 311.)
- Wolff, Die Differentialdiagnose des Typhusbacillus vom Bacterium coli auf Grund der Säurebildung. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XXXIII. 1903. p. 645.)

Nachdruck verboten

Ueber intranukleäre Körper der Lymphocyten und über geisselführende Elemente bei akuter lymphatischer Leukämie¹⁾.

[Aus dem Institut für allgemeine und experimentelle Pathologie der k. k. Universität Innsbruck.]

Von **M. Loewit**, Innsbruck.

Mit einer Tafel.

Ein vor kurzem auf der Innsbrucker medizinischen Klinik beobachteter Fall von lymphatischer Leukämie gab mir Gelegenheit, die von mir bereits früher²⁾ beschriebenen intranukleären Körperchen einer neuerlichen Prüfung zu unterziehen und ihre Beziehung zu parasitären Bildungen zu verfolgen. Der betreffende Fall gehörte klinisch in die Gruppe der akuten Leukämie, die Kranke ging wenige Tage nach ihrer Aufnahme bei ständigen, wenn auch nicht hochgradigen, Fieberbewegungen unter dem Bilde einer Infektionskrankheit zu Grunde. Hämatologisch mußte der Fall als eine Großlymphocyten-(Gonocyten-Keimzellen)Leukämie angesprochen werden; ob hierbei im Sinne Pappenheims³⁾ eine myeloplastische oder lymphoplastische Form vorlag, möchte ich unentschieden lassen. Zellen vom Charakter der Promyelocyten waren im Blute, wenn auch spärlich, jedenfalls vorhanden (Fig. 12). Die charakteristischen Großlymphocyten (Keimzellen) bildeten die überwiegende Mehrzahl (zwischen 60 und 80 Proz.) der vorhandenen weißen Blutkörperchen, kleine Lymphocyten (darunter auch Mesolymphocyten) waren in weit geringerer Menge (20—30 Proz.) nachweisbar, der Rest gehörte polynukleären, feingranulierten (sogenannten neutrophilen) Leukocyten an. Eosinophile Leukocyten und Mastzellen sowie andere Formen von Granulocyten fehlten vollständig, auch die sogenannten mononukleären neutrophilen „Myelocyten“ waren nur in wenigen Exemplaren nachweisbar.

Von diesem Falle konnte das Fingerbeerenblut wegen des rapid eintretenden Exitus nur einmal intravital auf Ausstrichpräparaten nach verschiedenen gebräuchlichen Färbungsmethoden⁴⁾ untersucht werden. Dagegen war es mir durch das besondere Entgegenkommen meines verehrten Kollegen Prof. Dr. Pommer, dem ich auch an dieser Stelle meinen verbindlichsten Dank abstatte, ermöglicht, bereits 3 Stunden nach dem Tode reichliches Blutmaterial aus der Jugularvene, sowie den Halslymphdrüsen entnehmen zu können. Gerade dieses frische Leichenmaterial und die Vergleichung desselben mit dem am 2. Tage nach dem Tode entnommenen Materiale (Blut, Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark) erwies sich für die folgenden Untersuchungen von der größten Wichtigkeit. Die Untersuchung des gesamten Materiales erfolgte an Ausstrichpräparaten, teilweise auch im frischen Zustande.

1) Nach einer am 7. Juni 1907 in der wissenschaftlichen Aerztesgesellschaft in Innsbruck abgehaltenen Demonstration.

2) Die Leukämie als Protozoeninfektion. Wiesbaden 1900. p. 104f. p. 251 f. Weitere Beobachtungen über die Parasiten der Leukämie. (Zeitschr. f. Heilkunde. Bd. XXI. 1900. Abt. f. path. Anat. p. 280f.)

3) Folia haematologica. Vol IV. 1907. No. 1, 2, 3, 4.

4) Vgl. Loewit, Fol. haematol. Vol IV. 1907. No. 4.

Schon die Untersuchung des Fingerbeerenblutes (von der Lebenden) mit der von mir beschriebenen zweizeitigen Kombinationsfärbung¹⁾ ergab in sehr zahlreichen, großen und kleinen einkernigen Leukocyten innerhalb des in der Regel sehr blaß gefärbten Kernes meistens 1–4 große oder kleine, ungefärbte Lücken von verschiedener, meist aber kreisrunder Gestalt, welche ihrer ganzen Beschaffenheit nach den Eindruck von ungefärbten, dabei aber stark vergrößerten Nukleolen machten, wie sie beispielsweise auch bei Naegeli²⁾ in seinem Lehrbuche auf Tafel IV, Fig. 4 von einer akuten lymphatischen Leukämie abgebildet sind.

Indessen ergaben Giemsa-Färbungen vom gleichen Blute, daß manche, an einzelnen Stellen recht zahlreiche, dieser nukleolenartigen Gebilde sich intensiv dunkelblau färbten und sich auf diese Weise sehr scharf in dem blaßgefärbten Kerninhalte erkennen ließen, in welchem gleichzeitig oft noch ungefärbte, nukleolenartige Körper nachweisbar waren. Da nun in den Großlymphocyten nur eine netzartige, eventuell feinwolkige Anordnung des Kernchromatins, nicht aber, wie in den kleinen Lymphocyten, eine Anordnung in Chromatinklumpen, die durch Fäden miteinander verbunden erscheinen, vorhanden war, so konnten diese bei Giemsa-Färbung in den Großlymphocyten dunkelblau hervortretenden Gebilde nicht als Chromatinhaufen angesprochen werden. Denn solche Chromatinhaufen waren bei guten Kernfärbungen (Toluidinblau, Methylenblau) nicht vorhanden, und es waren außerdem die bei Giemsa-Färbung dunkelblau tingierten Gebilde im Kerne meistens streng kreisrund, mit dem netzartigen Chromatingerüst nicht zusammenhängend und von demselben in der Regel durch einen deutlichen, manchmal recht großen, ungefärbten oder nur blaßbläulich gefärbten Hof abgesetzt.

Näherten sich diese Gebilde durch die oben erwähnten Charaktere in mancher Beziehung den Nukleolen, so sprach doch der angegebene Effekt der Giemsa-Färbung entschieden gegen eine solche Auffassung, da bei dieser Färbung, wie ja hinlänglich bekannt ist, und wie man sich auch an Kontrollfärbungen normaler Großlymphocyten und anderer lymphoider Elemente überzeugen konnte, die Nukleolen ungefärbt bleiben und nur durch ihre „negative Färbung“ hervortreten. An den im Blutpräparate des erwähnten Falles vorhandenen kleinen Lymphocyten war bei Giemsa-Färbung eine derartige Entscheidung über die im Kerne sich dunkelblau färbenden Gebilde nicht so gut möglich, da unter ihnen zahlreiche Kerne mit typischer klumpiger Chromatinanordnung vorhanden waren. Nur für die Großlymphocyten war es auf Grund der geschilderten Färbungsergebnisse wahrscheinlich geworden, daß in ihrem Kerne nukleolenartige Bildungen oder intranukleäre Körper vorhanden waren, welche den typischen Nukleolen nicht so ohne weiteres zugezählt werden konnten.

Es mußte mithin versucht werden, durch weitere Untersuchungen Aufklärung zu erhalten über die Beziehungen dieser intranukleären Körper, das ist der bei Giemsa-Färbung dunkelblau tingierten Gebilde von dem beschriebenen Charakter, zu den eigentlichen Nukleolen, die ja auch bei dieser Tinktion in vielen Zellen, wenn auch in negativer Färbung, kenntlich waren. Zu diesem Zwecke wurde das von Pappenheim³⁾ mit so gutem Erfolge in die hämatologische Technik eingeführte

1) Fol. haematol. Bd. IV. 1907. No. 4.

2) Blutkrankheiten und Blutdiagnostik u. s. w. Leipzig 1907. 1. Hälfte.

3) Virchows Archiv. Bd. CLVII. 1900. p. 32. Bd. CLIX. 1900. p. 57 und 69. Bd. CLXI. p. 439/40. Bd. CLXIV. 1901. p. 111. Bd. CLXVI. 1901. p. 424.

Methylgrün-Pyroninverfahren verwendet, welches bekanntlich, abgesehen von der starken Rotfärbung des basophilen Lymphocytenprotoplasma, eine leicht rote bis rosa Färbung der Kernkörperchen ergibt¹⁾.

Das im Folgenden verwendete Färbungsverfahren wurde nahezu ausschließlich an dem 3 Stunden post mortem entnommenen Material ausgearbeitet und konnte nur an wenigen Präparaten des der Lebenden entnommenen Fingerblutes geprüft werden, wobei keinerlei Differenz des Färbungsergebnisses hervortrat, was innerhalb gewisser Grenzen auch für das 2 Tage nach dem Tode entnommene Material gilt. Immerhin möchte ich die sofort zu beschreibende Methode nicht als eine nach jeder Richtung hin fertige und durchgearbeitete ansehen; es waren eben so viele Kontrolluntersuchungen und die Prüfung so zahlreicher Details notwendig, daß schließlich das betreffende Material, trotzdem anfangs sehr viel davon hergestellt worden war, nahezu ganz erschöpft war. Es ist also immerhin möglich, daß bei weiterer Verfolgung dieser Färbung sich noch Vereinfachungen oder sonstige Abänderungen ergeben werden, welche aber das hauptsächlichste Ergebnis dieser Färbung kaum beeinflussen werden.

Bezüglich der im folgenden verwendeten Art der Giemsa-Färbung bemerke ich, daß dieselbe in der Regel unter Hinzufügen einer Spur einer $\frac{1}{2}$ -proz. Pikrinsäurelösung als Beize angewendet wurde. Von derselben wird vor dem Zusatz der Farbflüssigkeit (Grüblers Giemsa-Lösung für Romanowsky-Färbung) eine so geringe Quantität dem Wasser zugesetzt, daß dasselbe einen kaum merklichen gelben Stich erhält; mehr Pikrinsäurezusatz bewirkt frühzeitige Niederschlagsbildung in der Farbflüssigkeit und ist daher zu vermeiden. Die Färbungsdauer beträgt 5—7 Minuten bei 37° C, zu welcher Zeit meist erst die Niederschlagsbildung in der Farblösung beginnt²⁾.

Zur Pyroninfärbung wurde die Karbol-Methylgrün-Pyroninlösung nach Unna-Pappenheim (Grübler) verwendet. Die Fixierung der Präparate erfolgte stets durch kurze Einwirkung von Methylalkohol; eine Einwirkungsdauer von 2—3 Minuten scheint bereits die Färbbarkeit der im folgenden zu beschreibenden Gebilde zu beeinträchtigen. Ich begnüge mich mit einem einmaligen kurzen Eintauchen der gestrichenen und lufttrockenen Deckgläschen und sofortigem Trocknen über der Flamme unmittelbar vor der Färbung. Stets waren dann, nicht nur bei dem erwähnten Falle von Lymphämie, sondern auch bei allen übrigen Kontrolluntersuchungen, sämtliche Zellen tadellos fixiert.

Die Pyroninlösung für sich allein ließ die Brauchbarkeit der Methode für die Sichtbarmachung der Nukleolen sehr gut erkennen, sowohl an dem lymphämischen Materiale (Fig. 1) als auch an dem reichlichen Kontrollmateriale, das mir zu Gebote stand (vergl. später). Es sei bei dieser Gelegenheit betont, daß ich eine entscheidende Gesetzmäßigkeit in der Zahl der Nukleolen, wie sie Naegeli³⁾ zwischen Lymphoblasten und Myeloblasten angeben hat, an dem entsprechenden Kontrollmateriale von normalen Meerschweinchen und Kaninchen, sowie an einer frisch exstirpierten normalen Lymphdrüse von Menschen nicht auffinden konnte. Es kommen jedenfalls auch in den Lymphdrüsen Zellen vor, die 4—6 Nuk-

1) Vgl. Naegeli, a. a. O. p. 15, 116f.

2) Der Zusatz von Pikrinsäure zur Giemsa-Flüssigkeit dürfte nicht unumgänglich erforderlich sein; er bewirkt aber jedenfalls eine dunklere Färbung der bewußten intranukleären Körperchen, ohne im übrigen das Resultat der Giemsa-Färbung im allgemeinen irgendwie zu beeinflussen.

3) l. c. p. 116f.

leolen führen können und als Lymphocyten (eventuell Großlymphocyten, Stammzellen, Lymphoblasten) angesprochen werden müssen. Eine große Anzahl von Lymphocyten enthält aber sicher nur 1—2 Nukleolen; ähnliche Differenzen kommen auch im Knochenmarke in den verschiedenen lymphoiden Zellen desselben vor, die bei Pyroninbehandlung die charakteristische Rotfärbung ihres Protoplasmas darbieten¹⁾. Immer ist die Nukleolenfärbung nur sehr blaß rosa, manchmal erscheinen sie nur mit einem rötlichen Schimmer versehen; ist die Kernfärbung sehr dunkel ausgefallen, so können sie wohl auch ganz unsichtbar sein, ohne daß deshalb schon auf ein Fehlen derselben geschlossen werden dürfte.

Was nun das lymphämische Material selbst anbelangt (Blut und Organe), so waren bei der bloßen Methylgrün-Pyroninfärbung in sehr vielen Fällen, in der Regel sogar in der Uebersicht derselben, und zwar sowohl in kleinen als auch in großen Zellen verhältnismäßig große Nukleolen vorhanden (Fig. 1), ein Befund, der auch schon von anderen Autoren mehrfach hervorgehoben wurde. Sie waren gleichfalls stets blaßrosa gefärbt, meistens gleichmäßig homogen, in einzelnen Fällen vakuolisiert, was auch an völlig normalem Materiale gesehen wurde. Nur die abnorme Größe unterschied sie von den letzteren, und zwar waren meistens neben einem oder zwei solchen größeren rosa Körperchen noch ein oder mehrere kleinere Nukleolen sichtbar, welche letztere auch fehlen konnten. Andererseits kamen auch Zellen vor, die nur kleine Nukleolen, aber keine größeren Körperchen enthielten.

Ob unter diesen größeren nukleolenartigen Bildungen einzelne jenen, bei der Giemsa-Färbung dunkelblau tingierten Gebilden entsprachen, ließ sich bei der bloßen Methylgrün-Pyroninfärbung nicht entscheiden. Wenn auch das Resultat der Giemsa-Färbung gegen den Charakter dieser Bildungen als Nukleolen sprach, so ließ sich doch die Möglichkeit nicht von der Hand weisen, daß diese Körper doch die Fähigkeit besitzen, das Pyronin aufzunehmen, ohne deshalb echte Nukleolen sein zu müssen. Es kam also darauf an, das färberische Verhalten dieser großen intranukleären Körper in den Lymphocyten bei der akuten Lymphämie gegenüber den kleinen Nukleolen näher zu verfolgen, und zu diesem Zwecke wurde nach zahlreichen Fehlversuchen folgende Kombination der Giemsa- und Pyroninfärbung verwendet:

Nach der in der obigen Weise durchgeführten Giemsa-Färbung werden die Präparate unter der Wasserleitung abgespült, zwischen Fließpapier getrocknet und sofort mit der Schichtseite nach unten auf die konzentrierte Methylgrün-Pyroninlösung gebracht. Darin verbleiben sie 3—5 Minuten, werden dann sofort zwischen Fließpapier von der überschüssigen Farbe befreit, jetzt erst in einer bereitstehenden Schale mit Wasser kurz abgespült und nun neuerdings zwischen Fließpapier getrocknet. Die behufs Einschluß der Präparate notwendige Entfernung der letzten Feuchtigkeitsreste darf nicht durch gelindes Erwärmen über der Flamme erfolgen, da dabei die Pyroninfärbung der hier in Betracht kommenden Gebilde stark abblaßt und bei stärkerem Erwärmen sogar ganz verschwindet. Ich lasse vielmehr die Präparate, um den angestrebten Zweck zu erreichen, längere Zeit an der Luft liegen oder ich beschleunige den Prozeß des Eintrocknens an der Luft dadurch, daß ich dieselben mehrere Male in der Luft hin- und herschwinde, worauf der Einschluß erfolgen kann.

1) Vgl. Loewit, *Fol. haematol.* 1907. No. 4. p. 482.

Der Einschluß in die verschiedenen Lacke ergab keine brauchbaren Dauerpräparate, da in diesen die anfänglich gute Pyroninfärbung meistens schon nach 24 Stunden extrahiert und unkenntlich geworden ist. Ich schließe vielmehr in dem für die Immersionslinsen gebräuchlichen Cedernöl ein, in welchem sich die Färbung, bis jetzt wenigstens, gut erhält¹⁾. Das Oel dickt allmählich etwas ein und die Präparate können dann ebensogut, als ob sie in Lack eingeschlossen wären, verwendet werden.

Für die großen intranukleären Körper hat sich diese einfache und leicht auszuführende Doppelfärbung vortrefflich bewährt, weniger gut jedoch für die im folgenden zu beschreibenden freien, geißelführenden Bildungen, deren Geißeln hierbei nur äußerst blaß und wahrscheinlich auch unvollkommen gefärbt hervortreten. Kommt es auf die Darstellung dieser geißelführenden Bildungen an, so werden die Präparate statt in Giemsa-Lösung in einfachem Löffler-Blau bei gelindem Erwärmen über der Flamme gefärbt und unter allmählichem Abkühlen der Flüssigkeit darin ca. 5 Minuten belassen. Hierauf wird unter der Wasserleitung abgespült und die Pyroninfärbung in der bereits erwähnten Weise durchgeführt.

Die nach diesen beiden Methoden hergestellten Präparate sind niederschlagsfrei und lassen alle Details klar erkennen. Für das Studium der verschiedenen Leukocytengranula sind sie jedoch nicht geeignet, sie sind auch für diesen Zweck nicht ausgearbeitet worden. Uebrigens waren in dem Falle der akuten Leukämie bis auf die wenigen feinkörnigen (neutrophilen) keinerlei granulaführenden Leukocyten vorhanden.

Verwendet man jedoch die beiden Methoden für Präparate von gemischtzelliger Leukämie (Myelämie) oder von Normalblut, eventuell Blut von anderen Erkrankungen, so verschwinden die durch die Giemsa-Färbung klar hervortretenden Leukocytengranula bei der nachträglichen Pyroninbehandlung zum größten Teile wieder, da hierbei eine Quote der Giemsa-Färbung wahrscheinlich extrahiert wird. Bei der Löffler-Blaufärbung kommt aber eine Granulafärbung, abgesehen von den Mastzellen, überhaupt nicht zu stande. Diese basophile Granulation ist aber sowohl bei vorausgehender Giemsa- als bei Löffler-Blaufärbung stets deutlich und scharf vorhanden und zeichnet sich nach der Pyroninbehandlung durch einen tiefdunkeln, braunroten Farbenton aus. Nur wenn die anfängliche Fixierung der Präparate in Methylalkohol zu kurz ausgefallen ist, kommen Quellungs- und Zerreißungserscheinungen an den basophilen Granulationen bei der Löffler-Färbung zu stande, die aber auch dann noch an ihrem charakteristischen Farbenton erkannt werden können. Im allgemeinen empfinde ich den Eindruck, daß die nach der kombinierten Giemsa-Pyroninfärbung hergestellten Präparate sich besser zum Studium der intranukleären Körper, die nach der Löffler-Pyroninfärbung hergestellten Präparate sich besser für das Studium der noch zu beschreibenden freien, geißelführenden Körper eignen.

Bei den mit Giemsa-Pyronin behandelten Präparaten erscheinen die Erythrocyten meist noch leicht eosinartig, bei den Löffler-Pyroninpräparaten sind sie ganz farblos, basophile Granula waren in dem myelämischen Blute bei beiden Methoden mehrfach zu erkennen. Die Kerne der Normo- und Megaloblasten, wo sie vorhanden waren, erschienen rein blau bis blaugrün.

Die polynukleären sowie die fein granulierten Leukocyten überhaupt oder deren Vorstufen ließen bei der Giemsa-Pyroninfärbung meistens

1) Ein langsam eintretendes Abblässen der Färbung ist aber auch in Oel merkbar.

noch Reste der ihnen zukommenden Granula erkennen, bei der Löffler-Pyroninbehandlung war ihr Zellleib ungefärbt homogen, der Kern in beiden Fällen distinkt blaugrau bis blauviolett gefärbt. Die Reaktion der Mastzellengranula wurde bereits angeführt. Die Eosinophilen sind ungefärbt, eventuell schwach rötlich gefärbt, aber auch in dieser Beschaffenheit unterscheidbar, jedes einzelne der groben Granula scheint von einem dunkeln Kontur umgeben zu sein.

Die verschiedenen lymphocytären Elemente zeigten meistens die charakteristische Rotfärbung¹⁾ des Protoplasma (Fig. 1, 9, 10, 11, 13, 16), dieselbe kann jedoch auch manchmal fehlen und entweder durch reines basisches Blau (Fig. 8) oder durch eine Mischfarbe von rot und blau (Fig. 14) oder durch Anwesenheit beider Farben nebeneinander (Fig. 12, 15) vertreten sein. In dem einen Falle darf wohl angenommen werden, daß hierbei die durch die Giemsa- (oder Löffler-) Färbung bedingte basische Blaufärbung des Zellprotoplasmas durch das nachträgliche Pyronin aus unbekannter Ursache nicht oder nur unvollständig ersetzt werden konnte, während in dem anderen Falle wohl solche Elemente vorliegen dürften, die gegenwärtig als Prämyelocyten (Fig. 12, 15) nach Pappenheim aufgefaßt werden dürfen²⁾. Die Anwesenheit solcher Elemente im peripheren Blute bei der akuten lymphatischen Leukämie kann nach der diesen Elementen zugesprochenen Bedeutung wohl nicht befremden, nur dürfen dieselben nicht, worauf der Name hinzuweisen scheint, als ein Beweis ihrer Abstammung aus dem Knochenmarke angesehen werden.

Was nun die Kerne der Lymphocyten in dem angeführten Falle großzelliger akuter Leukämie anbelangt, so erscheinen dieselben bei der Giemsa-Pyroninbehandlung blau bis blaugrün, manchmal mehr violett. Manche Kerne lassen noch deutliche Chromatinstruktur erkennen, Chromatinklumpen und -Balken oder Netze in dem eben erwähnten Farbenton, der dann zumeist recht dunkel, trachychromatisch ist. Auch dunkel gefärbte Lymphocytenkerne kamen vor, die keine deutliche Kernstruktur erkennen lassen, und möglicherweise in einer durch Hyperchromatose bedingten Degeneration befindlich sind.

Sehr viele Kerne, stellenweise die Ueberzahl, sind hingegen auffallend blaß, amblychromatisch gefärbt und lassen keine rechte Chromatinstruktur erkennen, die Kerne erscheinen mehr homogen, besitzen jedoch höchstwahrscheinlich eine wolkige oder feinnetzartige Chromatinanordnung. Von diesen Zellen zu den nach Gumprecht³⁾ durch Hypochromatose entstehenden sogenannten Leukocyten Schatten gibt es alle möglichen Uebergänge. Ich schließe mich bezüglich dieser „Zellschatten“ der Auffassung Blochs⁴⁾ an, daß ein Teil derselben jedenfalls erst durch die Präparation (Antrocknen) entstanden ist, was bezüglich der früher erwähnten amblychromatischen Lymphocyten gewiß nicht angenommen werden kann.

In sehr vielen dieser verschiedenen kleinen und großen Lymphocytenkerne können nun typische kleine, rosa oder blaßrote Nukleolen erkannt werden (Fig. 8, 9, 10, 11, 16), wie sie auch in dem untersuchten zahlreichen Kontrollmaterialie (vergleiche später) vorkommen. Außer diesen blaßen Nukleolen finden sich nun in sehr vielen Kernen dunkelrot bis blaurot gefärbte Körper in der Ein- oder Mehrzahl vor (Fig. 8—14,

1) Dieselbe ist bei der Reproduktion der Tafel etwas zu gelb ausgefallen.

2) Vgl. Loewit, Fol. haemat. Vol. IV. 1907. No. 4.

3) Deutsch. Archiv f. klin. Medizin. Bd. LVII. 1896. p. 523.

4) Ziegler's Beiträge. Bd. XXXI. 1902. p. 311.

16), welche ihrem Aussehen nach mit den bei der alleinigen Giemsa-Färbung sich dunkelblau färbenden, intranukleären, nicht mit dem Chromatinnetz zusammenhängenden Gebilden übereinstimmen.

Sie sind von verschiedener Größe, die großen Formen (Fig. 11, 12, 13, 16) überwiegen in der Regel, sie kommen sowohl in amblychromatischen als in trachychromatischen Kernen (Fig. 8) vor. Sie liegen entweder zentral oder, was die Regel ist, exzentrisch im Kern, sind meistens gleichmäßig gefärbt, lassen jedoch manchmal einen hellen, vakuolenartigen Teil im Innern (Fig. 13) oder ein dunkleres Korn daselbst erkennen (Fig. 12); auch solche in die Länge gezogene, gelegentlich, wenn auch selten, sichelförmige, Körper wurden beobachtet (Fig. 14).

Als besonders charakteristisch für diese dunkel gefärbten, intranukleären Körper sei betont, daß sie in der Regel von einem lichten, manchmal recht großen Hof umschlossen sind, in welchem keine Chromatinfärbung kenntlich ist, und daß sie keinerlei Zusammenhang mit den blau bis blauviolett gefärbten Chromatinbestandteilen des Kernes erkennen lassen. Rosa bis rötlich gefärbte kleine Nukleolen in der Ein- und Mehrzahl lassen sich neben diesen dunkeln, intranukleären Körpern, ihnen manchmal eng anliegend (Fig. 8), meistens aber von ihnen örtlich getrennt (Fig. 9, 10, 11, 16), in der Regel nachweisen, doch kommen auch Kerne mit dunkeln, intranukleären Körpern ohne Nukleolen und auch Kerne mit Nukleolen ohne dunkle Körper vor. Jedenfalls können bei dieser und auch bei der Löffler-Pyroninmethode die in dem gleichen Kern enthaltenen, rosa gefärbten Nukleolen von den dunkeln, intranukleären Körpern tinktoriell gut getrennt werden.

Jene Kerne, welche die dunkeln, intranukleären Körper enthalten, lassen niemals eine deutliche Kernstruktur erkennen, sie können dabei trachy- oder amblychromatisch gefärbt sein, zeigen aber stets nur ein mehr verwaschen gefärbtes Kernbild, während der Zelleib noch ganz gut erhalten sein kann. Auch die eigentlichen „Leukocytschatten“ enthalten in der Regel die dunkeln Körper im Kern. Kerne mit erhaltener Chromatinstruktur, in denen also noch Chromatinklumpen oder -Netze erkannt werden können, erweisen sich stets frei von den dunkelroten, intranukleären Körpern, während es andererseits aber auch Kerne mit verwaschener Kernstruktur ohne diese Körper geben kann. In sehr seltenen Fällen konnten ganz analoge, dunkelrot gefärbte Körper auch im Zelleib gefunden werden (Fig. 15). Alle Zellen mit solchen Körpern im Kern machen den davon freien Zellen gegenüber den Eindruck einer vorhandenen Chromatindegeneration.

Diese dunkeln, intranukleären Körper wurden in dem der lebenden Kranken entnommenen Fingerblute sowie in dem Jugularisblute der Leiche 3 Stunden p. m. sehr reichlich in den verschiedenen Lymphocyten vorgefunden. Immerhin kamen Präparate vor, in denen Lymphocyten von normaler Struktur ohne intranukleäre Körper reichlich, manchmal in der Ueberzahl, vorhanden waren. In den Lymphocyten der 3 Stunden p. m. entnommenen Lymphdrüsen, ebenso wie in jenen der 2 Tagen p. m. entnommenen Lymphdrüsen, der Milz und des Knochenmarkes waren diese Körper stets reichlich und in wechselnden Mengen nachweisbar, fehlten jedoch auch hier in vielen Zellen.

Wie sind nun diese dunkeln, intranukleären Körper aufzufassen? Vor allem ist es wohl klar, daß sie nicht so ohne weiteres für Nukleolen gehalten werden können, wie es mehrfach geschehen ist, da sie als etwas von den typischen Nukleolen tinktoriell Verschiedenes neben diesen in

dem gleichen Kern zur Darstellung gebracht werden können; sie können auch nicht für Chromatinklumpen angesprochen werden, da sie keinen Zusammenhang mit dem Chromatinbalken- und Netzwerk erkennen lassen und auch in färberischer Beziehung von diesem unterschieden sind. In dieser Beziehung sei außer dem bereits Erwähnten noch besonders hervorgehoben, daß diese intranukleären Körper sich mit Hämatoxylin nicht färben und auch bei der M. Heidenhainschen¹⁾ Hämatoxylin-Eisenlackmethode keine Farbe, manchmal nur einen blaßbläulichen Schimmer gegenüber den dunkelblauschwarz tingierten Chromatinklumpen und dem ebenso gefärbten Chromatinnetzwerk annehmen.

Was nun die Anwesenheit solcher dunkler intranukleärer Körper in dem untersuchten Kontrollmaterial anbelangt, so ist darüber folgendes zu sagen: In den kleinen und großen Blutlymphocyten bei mehreren normalen Individuen, in den gleichen Elementen eines Falles von Chlorose, perniziöser Anämie und gemischtzelliger Leukämie (Myelämie), sowie in den lymphocytären Elementen frisch entnommener Lymphdrüsen, Milz und Knochenmark normaler Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen), ferner in den reichlichen lymphoiden Zellen der normalen Peritonealflüssigkeit bei den gleichen Tieren fehlten diese Gebilde vollständig, während die kleinen blaßrosa Nukleolen in der Regel überall gut erkannt werden konnten. Mehrfach kamen in gequetschten oder sonstwie lädierten Zellkernen größere blaßrosa Nukleolen vor, die aber schon ihrer Färbung nach von den intranukleären Körpern abgetrennt werden konnten.

Von menschlichem Leichenmaterial standen mir die Lymphdrüsen von vier verschiedenen Fällen zur Verfügung, die Herr Kollege Pommer so freundlich war, mir zu überlassen. Dieselben wurden 2 Tage p. m. der Leiche entnommen und nach den obigen Methoden auf Ausstrichpräparaten untersucht. Bei drei dieser Fälle konnte, wo überhaupt noch eine Unterscheidung der Kernstruktur möglich war, ein abnormer Befund nicht erhoben werden, es waren nur die kleinen, blaßgefärbten Nukleolen nachweisbar. In einem Falle (Prot.-No. 7775/166, 13. Mai 1907, 14 Monate altes Mädchen), dessen Sektionsdiagnose mir freundlichst bekannt gegeben wurde (lobuläre Pneumonie des linken Unterlappens bei eitriger Bronchitis, trübe Schwellung der Nieren, hochgradige allgemeine Anämie nach Exstirpation einer Geschwulst der rechten Wangengegend [angeblich: Angiosarcoma faciei], chronischer Darmkatarrh, Lymphdrüsen und Milz geschwellt, ausgeheilte Rhachitis) wurde in den Ausstrichpräparaten der Lymphdrüsen deutlich vergrößerte Nukleolen von blasser Farbe gefunden, welche ihrer Färbung, Größe und allgemeinen Beschaffenheit nach mit den intranukleären Körpern bei der großzelligen lymphatischen Leukämie nicht identifiziert werden konnten.

Dagegen waren in den hochgradig veränderten Lymphocyten einer frisch exstirpierten, carcinomatösen Lymphdrüse, die Herr Kollege Schloffer die Freundlichkeit hatte, mir zu übersenden, in den gequollenen und äußerst chromatinarmen Kernen Gebilde vorhanden, deren morphologische Identität mit den intranukleären Körpern bei der akuten lymphatischen Leukämie wohl nicht bezweifelt werden konnte. Diese intranukleären Körper stellten, meistens nur in der Einzahl vorhanden, eine ganz regelmäßige Erscheinung in den carcinomatös entarteten Zellen dar. Es geht demnach aus diesem Befunde hervor, daß die intranukleären Körper keine für die akute lymphatische Leukämie spezifische Erscheinung darstellen, wenn auch daraus noch nicht gefolgert werden

1) Archiv f. mikroskop. Anat. Bd. XLIII. 1894. p. 423 f.

kann, daß die intranukleären Körper in den Lymphocyten bei den akuten lymphatischen Leukämie und in den carcinomatös entarteten Lymphocyten als absolut identische Bildungen aufzufassen sind.

Man wird bei der Beurteilung dieser Gebilde sich in negativem Sinne gegenwärtig wohl nur dahin aussprechen können, daß sie als normale, typische Nukleolen (Plasmosomen) nicht aufgefaßt werden können, ja es muß sogar als fraglich bezeichnet werden, ob sie echte physiologische Bildungen sind und in die Gruppe der Haupt- eventuell Nebenkernkörperchen oder der Karyosomen gehören¹⁾. Viel wahrscheinlicher ist es, daß es sich um Bildungen handelt, die nur unter pathologischen Verhältnissen im Kern auftreten, wobei man entweder an fremde, von außen in den Kern gelangte Bestandteile oder an pathologisch veränderte Nukleolarsubstanz (Plastin, Pyrenin, Paranuklein) oder an pathologisch veränderte Chromatinsubstanz (Chromatinnukleolen)²⁾ denken kann. Die erste Möglichkeit soll vorläufig außer Diskussion bleiben, zwischen den beiden anderen bin ich zunächst nicht in der Lage, eine bestimmte Entscheidung fällen zu können.

In dem frisch untersuchten Jugularisblute der dreistündigen Leiche waren die geschilderten intranukleären Körper ohne jeglichen Zusatz zum Blute jedenfalls sehr gut als selbständige, mit dem Chromatinnetze in keinerlei Zusammenhang stehende Gebilde kenntlich. Wurde nun nach der von Flemming³⁾ angegebenen Weisung zur Sichtbarmachung der Nukleolen dem frischem Blute Wasser zugesetzt, so verschwand in der Regel sofort das Chromatinnetz und die intranukleären Körperchen, während jetzt erst die eigentlichen kleinen Nukleolen in vielen Kernen hervortraten. Auch diese Beobachtung spricht nicht zu Gunsten der Annahme, daß die sogenannten intranukleären Körper und die eigentlichen Nukleolen als identische Gebilde aufzufassen sind. Eine Untersuchung des Jugularisblutes bei Dunkelfeldbeleuchtung ergab keinerlei Anhaltspunkte für die Beurteilung der intranukleären Körper. Leider wurde verabsäumt, den Zellsaft der der 3-stündigen Leiche entnommenen Halslymphdrüsen im frischen Zustande zu untersuchen, was namentlich für die im Folgenden zu beschreibenden Befunde von größter Wichtigkeit gewesen wären⁴⁾.

1) Vgl. Havet, J., L'origine des nucléoles vrais ou plasmosomes des cellules nerveuses. (Anat. Anz. Bd. XXIX. 1906. p. 258.)

2) Vgl. Moroff, Th., Centralbl. f. Physiol. Bd. XXI. 1907. p. 169.

3) Zellsubstanz, Kern und Zellteilung. Leipzig 1882. p. 140.

4) Zusatz bei der Korrektur: In letzterer Zeit hat sich Patella (La Province médicale. 1907. No. 35. p. 441) eingehend mit der Bedeutung der Pappenheimschen Pyroninreaktion beschäftigt, und glaubt aus seinen Beobachtungen den Schluß ziehen zu können, daß die charakteristische Rotfärbung des Lymphocytenprotoplasma den Ausdruck eines bestimmten Stadiums der Degeneration eines absterbenden oder bereits abgestorbenen Protoplasma darstellt, und daß die mononukleären Zellen des Blutes anderen Zellen des Blutes gegenüber vor allem diese Färbung zeigen, weil diese Zellen als abgestoßene, exfoliierte Endothelzellenderivate von vornherein bereits ein totes oder in einem bestimmten Stadium der Degeneration befindliches Protoplasma haben, was bei den anderen Blutzellen eben nicht der Fall ist.

Es kann hier nicht in eine eingehende Analyse dieser Annahme und Deutung Patellas eingegangen werden, es sei aber hervorgehoben, daß die Schlußfolgerungen Patellas aus seinen Beobachtungen nicht mit zwingender Notwendigkeit hervorgehen. Aus dem Umstande, daß gekochte, nicht aber ungekochte Albuminkörper mit Pappenheimscher Flüssigkeit eine Rotfärbung geben, folgt doch nicht unmittelbar, daß das Cytoplasma der mononukleären Leukocyten, das diese Reaktion gibt, koaguliertes oder überhaupt degeneriertes Protoplasma ist. Das ist allenfalls ein schwacher Analogieschluß, aber noch lange kein gesicherter Beweis.

Von größerer Bedeutung scheint mir der Nachweis geißelführender Körper in ziemlich reichlicher Menge (Fig. 17, 18, 19, 20, 21) in den Ausstrichpräparaten der 3 Stunden p. m. entnommenen Lymphdrüsen; diese Bildungen treten, wie bereits erwähnt wurde, bei der Löffler-Pyroninfärbung besser hervor als bei der Giemsa-Pyroninbehandlung, können jedoch auch bei dieser letzteren dargestellt werden (Fig. 21, 23, 24). Jede dieser beiden Färbungen hat besondere Vor- und Nachteile. Bei der Kombination Löffler-Pyronin treten die geißelführenden Elemente in der Regel blaß, aber doch deutlich rotgefärbt hervor, wodurch sie sich von den der Hauptsache nach blaugefärbten Lymphocyten gut abheben. Ueber die Beziehungen dieser Elemente zu dem durch Pyronin gleichfalls rotgefärbten Lymphocytenplasma wird sofort noch näher zu berichten sein. Der Nachteil dieser Färbung liegt andererseits darin, daß dabei das Zwischengewebe zwischen den Lymphocyten, namentlich da, wo die Zellen etwas weiter voneinander abstehen, einen mehr oder minder deutlich bläulichen Farbenton und manchmal leicht körnigen Charakter annimmt, wodurch gerade die im Interzellulärgewebe (vergleiche später) gelegenen, geißelführenden Elemente bei ihrer blassen Färbung leicht verdeckt werden können.

Diese Gebilde treten am schärfsten hervor, wenn das Zwischengewebe ganz farblos, eventuell leicht mattgrau, homogen und faltenlos erscheint, und in dieser Beziehung ist die Kombination Giemsa-Pyronin der ersteren jedenfalls weit überlegen, namentlich wenn die geißelführenden Elemente rotgefärbt erscheinen. Aber der nicht unbeträchtliche Nachteil dieser Färbung liegt darin, daß dabei diese Elemente mehrfach die nachträgliche Pyroninfarbe nicht annehmen und blau bleiben, selbst wenn das Lymphocytenplasma rot gefärbt ist (Fig. 21), das aber gleichfalls unter diesen Verhältnissen die blaue Farbe festhalten kann. Wenn also auch bei dieser Kombination färberrische Differenzen zwischen Lymphocytenprotoplasma und geißelführenden Elementen hervortreten können, ein Vorteil, der sich zu der bereits erwähnten ungefärbten und zumeist homogenen Beschaffenheit des Zwischengewebes hinzugesellt, so verlieren die mit dieser Färbung hergestellten Präparate doch gerade durch die vielfach vorhandene Blaufärbung der geißelführenden Elemente an Uebersicht und sie erscheinen auch blässer und daher vielfach minder scharf kenntlich als in den mit der ersten Kombination hergestellten Präparaten.

Diese geißelführenden Gebilde sind auch bei Methylgrün-Pyronin-

Es könnte aber gerade aus den oben mitgeteilten Befunden, daß innerhalb zahlreicher Kerne von mononukleären Leukocyten in den oben erwähnten Fällen und manchmal auch im Protoplasma dieser Zellen größere oder kleinere, mit Pappenheimscher Flüssigkeit sich rötlich färbende Klumpen nachgewiesen werden können, die wahrscheinlich als Produkte einer Degeneration zu deuten sind, eine Stütze der Patellaschen Deutung über den Charakter der Rotfärbung durch Pyronin abgeleitet werden. In dieser Beziehung ist aber hervorzuheben, daß der Farbenton der sogenannten intranukleären Körper und jener des Cytoplasmas der Mononukleären ein total verschiedener ist, und daß ich niemals irgendwelche Uebergänge des Farbentones in dieser Beziehung konstatieren konnte.

Zusammenfassend möchte ich schließlich bemerken, daß das Resultat der Pappenheimischen Färbung an den mononukleären Elementen des Blutes und der blutzeilenbildenden Organe für sich allein gewiß nicht als ausreichender Beweis für die histo- und phylogenetische Zusammengehörigkeit dieser Elemente aufgefaßt werden kann, daß aber nach dem bis jetzt hierüber vorliegenden Material aus der Anwesenheit dieser Färbung noch viel weniger auf einen degenerierten oder in Degeneration begriffenen Zustand des Cytoplasma der betreffenden Zellen geschlossen werden kann.

färbung allein tingibel, treten aber dann viel blasser als bei der Kombinationsfärbung Löffler-Pyronin hervor; jedenfalls wirkt die vorausgeschickte Löffler- oder Giemsa-Färbung für das deutliche Hervortreten dieser geißelführenden Körper bei der nachträglichen Pyroninfärbung in hohem Grade fördernd. Mit Hämatoxylin (Hämatoxylin-Eisenlack) färben sich diese Körper nicht und sie treten auch bei nachträglicher Pyroninbehandlung nicht hervor. Auch die alleinige Löffler-Färbung läßt die verschiedenen, hier in Betracht kommenden Formen erkennen, doch ist dieselbe nicht nur minder scharf und deutlich, sondern die betreffenden Gebilde treten auch bei der allgemeinen Blaufärbung nicht so gut hervor. Die Kombination Löffler-Pyronin hat sich vorläufig als die günstigste erwiesen. Andere Färbungen konnten bisher wegen Mangel an Material nicht geprüft werden, doch ist es wahrscheinlich, daß diese Körper auch bei anderen basischen Färbungen darstellbar sein dürften¹⁾.

Das wesentlichste Moment für den Nachweis dieser geißelführenden Körper liegt nach meinen bisherigen Erfahrungen hauptsächlich in dem Umstande, daß das zur Untersuchung verwendete (Drüsen) Material möglichst bald nach eingetretenem Tode der Leiche entnommen und sofort verwendet wurde. Wahrscheinlich dürfte eine intravital exstirpierte Lymphdrüse, eventuell durch intravitale Milzpunktion gewonnenes Blut zu diesem Zwecke gleich gute Dienste leisten.

Dagegen war in den 2 Tagen p. m. der Leiche entnommenen und verarbeiteten Lymphdrüsen nichts mehr oder nur unkenntliche Reste von den geißelführenden Körpern nachweisbar, worin wohl unter anderem ein Hauptgrund dafür gelegen sein dürfte, daß diese Bildungen bei der akuten lymphatischen Leukämie bisher nicht beschrieben und wohl auch nicht gesehen worden sind. Da ich nun Milz und Knochenmark nur an den 2 Tage p. m. der Leiche entnommenen Organen untersuchen konnte, so vermag ich mich auch nicht darüber auszusprechen, ob diese geißelführenden Körper in diesen Organen intravital oder kurze Zeit post mortem vielleicht überhaupt nicht vorhanden sind, was aber von vornherein recht unwahrscheinlich ist. Für die Nachprüfung dieser Beobachtungen muß der größte Nachdruck darauf gelegt werden, daß die geißelführenden Körper nur in dem bald nach dem Tode (3 Stunden) entnommenen Lymphdrüsenmaterial, nicht mehr aber in dem 2 Tage nach dem Tode entnommenen Materiale gefunden wurden.

Die Ursache des Verschwindens dieser Bildungen in der angegebenen Zeit kann eine mehrfache sein und dürfte gegenwärtig kaum noch präzisiert werden können. Man wird dabei immerhin denken dürfen entweder an ein Absterben dieser Bildungen in der Leiche, was aber bereits voraussetzt, daß es sich um lebende Gebilde handelt; oder an histolytische von den Lymphocyten ausgehende Prozesse, oder an autolytische Prozesse, die zur Vernichtung der genannten Elemente führen; ferner an Vernichtung durch Fäulniskeime in der Leiche, an Vernichtung durch Phagocytose, an Ueberführung in andere Organe in der Leiche u. a. m.

Was nun diese geißelführenden Körper selbst anbelangt, so habe

1) Ein Versuch mit der von mir angegebenen methylalkoholischen Eosin-Toluidinblaufärbung (Fol. haemat. Vol. IV. p. 479) ergab höchst unvollkommene Färbung der Geißeln, während die Körper (ohne Geißeln) doch mit großer Wahrscheinlichkeit blaß gefärbt erkannt werden konnten.

ich in den Fig. 17 und 18 eine Reihe solcher Körper von verschiedenen Stellen eines Präparates zusammengestellt, während Fig. 19, 20 und 21 getreue Abbildungen entsprechender Stellen im Präparate wiedergeben. Man erkennt leicht, daß im wesentlichen drei Gruppen von geißelführenden Körpern auseinander gehalten werden können: 1) solche, bei welchen von einem flaschen-, sichel- oder birnförmig gestalteten Körper eine deutliche und manchmal auffallend lange und mehrfach gewundene Geißel abgeht, geißelführende Körper [Fig. 17 (1—9), Fig. 18 (1, 2, 3, 6, 9), Fig. 19 (1)], 2) freie geißelförmige Bildungen ohne Körper [Fig. 18 (8), Fig. 19 (5, 6)] und 3) geißelförmige Bildungen, welche eine knopf-, punkt- oder ringförmige Anschwellung entweder nur an einem Ende der Geißel [Fig. 18 (2, 7), Fig. 19 (2, 3, 4), Fig. 20 (1, 2), Fig. 21] oder an beiden Enden besitzen [Fig. 18 (4, 5, 6), Fig. 21 (1)]. Manchmal zeigen auch Formen der ersten Gruppe eine derartige punktförmige Anschwellung am Ende der Geißel [Fig. 18 (1, 3, 6)], und manchmal bieten die Formen der dritten Gruppe ein deutlich spermatozoenähnliches Aussehen [Fig. 19, (2), Fig. 20 (1, 2), Fig. 21].

Ob diese Formen zusammengehörige, ineinander übergehende und auseinander hervorgehende Bildungen darstellen, vermag ich zunächst nicht zu entscheiden, so nahe ein solcher Gedanke auch bezüglich der Formen der ersten und dritten Gruppe sein mag. Bezüglich der Formen der zweiten Gruppe scheint mir die Möglichkeit nicht außer Betracht bleiben zu können, daß diese freien geißelförmigen Bildungen durch die Präparation abgerissene oder sonstige künstlich frei gewordene Elemente der geißelführenden Körper der ersten Form darstellen, da man in den Präparaten zahlreiche solche Körper mit ganz kurzen Geißeln [Fig. 18 (2, 8)], eventuell völlig geißellose entsprechende Körper auffinden kann. Ein bestimmter Anhaltspunkt für diese Entstehungsart der freien geißelförmigen Bildungen ist aber damit selbstverständlich nicht gegeben, es kann deshalb immer noch auch den freien, geißelförmigen Bildungen ohne jegliche knopf- oder punktförmige Anschwellung an den Enden eine mehr selbständige Stellung zukommen. Ich möchte mich vorläufig überhaupt jeglichen Deutungsversuches der gefundenen Formen enthalten und nur das in diesem Falle gesehene Material beschreiben. Immerhin erscheint es bei dieser Gelegenheit geboten, auf eine gewisse Regellosigkeit der Form und der Windungen dieser freien, geißelförmigen Bildungen hinzuweisen, die auch in den Zeichnungen zum Ausdruck kommt, welche aber der naheliegenden Auffassung derselben als Spirochäten, wie das Beispiel der Recurrensspirochäten zeigt, nicht gerade widerspricht.

Die Färbung der geißelführenden Körper und der geißelähnlichen Bildungen überhaupt entsprach bei der Löffler-Pyronin- (und vielfach auch der Giemsa-Pyronin-) Behandlung einem blassen Rotblau, etwa von der gleichen Farbennuance, aber weit schwächerer Intensität¹⁾, wie sie die oben erwähnten intranukleären Körper darboten. Die dadurch nahegelegte Vermutung, daß diese beiden Bildungen zusammengehören, konnte durch die darauf hin gerichteten Beobachtungen nicht gestützt werden. Zunächst kann gewiß nicht ausgeschlossen werden, daß die sogenannten intranukleären Körper, sei es spontan, sei es bei der Präparation aus dem Kern, entweder in den Zelleib (Fig. 15) oder überhaupt

1) Die Färbung ist, wenn auch deutlich, so doch immer, namentlich bei vorhandener Pyroninfärbung, sehr blaß, und es ist mir deshalb mit den mir zu Gebote stehenden Hilfsmitteln eine photographische Aufnahme der betreffenden Gebilde nicht gelungen.

aus der Zelle herausgelangen und dann eine gewisse Aehnlichkeit mit geißelführenden, ihrer Geißel jedoch verlustig gewordenen Körpern erlangen können. Es scheint mir jedoch gegenwärtig angemessener zu sein, bei der Beurteilung der geißelführenden Körper von ihrem so charakteristischen Geißelfaden nicht abzusehen und alle Bildungen ohne dieses charakteristische Merkmal von den geißelführenden Körpern vorläufig auszuschließen.

Dagegen ist es mir bisher niemals gelungen, an den intranukleären Körpern eine Geißel oder einen geißelartigen Anhang mit Sicherheit nachzuweisen, auch in jenen Fällen nicht, wo Kern und Zelle ganz blaßgefärbt waren und eine geißelförmige Bildung der Beobachtung nicht hätte entgehen können. Nur wenn dieser Befund positiv ausgefallen wäre, hätte die Zusammengehörigkeit der beiden Bildungen eine gewisse Stütze erhalten. Unbeschadet der im Vorausgehenden dargelegten Auffassung der intranukleären Körper, wird bei weiteren Untersuchungen über diesen Gegenstand die Frage der Zusammengehörigkeit der intranukleären Körper und der geißelführenden Körper im Auge zu behalten sein.

Die geißelführenden Körper erscheinen in den meisten Fällen gleichmäßig und homogen gefärbt, manchmal kann in ihnen eine schwache Granulierung erkannt werden [Fig. 17 (5)], und gar nicht so selten tritt im Körper ein kleiner heller, vakuolenartiger Teil hervor [Fig. 17 (6, 8, 9), Fig. 18 (2), Fig. 21 (2, 4, 5), Fig. 24, 27]. Auch der geißelförmige Faden macht in einzelnen Fällen den Eindruck, als ob er aus einzelnen Granulis zusammengesetzt wäre, auch da, wo scheinbar keinerlei Präparationsfehler vorzuliegen scheinen; in der Mehrzahl der Fälle ist er jedoch als ununterbrochener Faden rot bis rotblau gefärbt.

Die geißelführenden Körper liegen im Präparate meistens einzeln, selten fanden sich zwei miteinander vereinigt [Fig. 17 (3)]. Die geißelführenden Formen mit den knopf- und punktförmigen Anschwellungen an den Enden sowie die freien, geißelförmigen Bildungen kommen oft gehäuft an der gleichen Stelle des Präparates vor (Fig. 19, 21), doch war auch hier ein sicherer Zusammenhang der einzelnen Bildungen untereinander nicht zu erkennen. Gruppen- oder büschelartige Anordnung dieser Elemente wurde niemals gesehen, immerhin wird mit Rücksicht darauf, daß vorläufig bloß Ausstrich- und Trockenpräparate untersucht werden konnten, ein Urteil über Lagerung und Anordnung der betreffenden Gebilde unter natürlichen Verhältnissen zur Zeit nicht gegeben werden können. Jedenfalls waren aber in verschiedenen Präparaten aus den Lymphdrüsen diese geißelförmigen Bildungen mit den knopf-, ring- oder punktförmigen Anschwellungen¹⁾, sowie die freien geißelförmigen Bildungen ohne Körper gegenüber den eigentlichen geißelführenden Körpern (Fig. 17) die an Zahl bedeutend überwiegenden, streckenweise konnten nur die erstgenannten Formen gefunden werden.

Dieser Umstand kann vielleicht darauf zurückgeführt werden, daß bei der angewendeten Art der Herstellung von Deckglastrockenpräparaten ein großer Teil dieser geißelführenden Bildungen und darunter namentlich der eigentlich geißelführenden Körper (Fig. 17) mehr oder weniger lädiert, verzerrt und verzogen wird und sich damit der sicheren Erkennung ent-

1) Knopf- und ringförmige Anschwellungen an den Enden sind bekanntlich auch an der *Spirochaeta pallida* beschrieben worden (Herxheimer, Münch. mediz. Wochenschr. 1905. No. 39 u. 46). Die Deutung der ringförmigen Anschwellung am Ende der Geißel, die in den Fig. 18 (2) und 19 (5) gut zum Ausdrucke kommt — manchmal sind noch weit größere „Ringe“ vorhanden — als ringförmige Umschlagstellen des Geißelfadens, wird wohl jedenfalls in Betracht gezogen werden müssen.

zieht, was bei den beiden anderen Formen in so hohem Grade nicht der Fall zu sein scheint. Das ist leider ein Uebelstand, der bei der Beurteilung der Präparate jedenfalls berücksichtigt werden muß, und der zunächst noch sehr störend wirkt, dabei aber auf eine starke Vulnerabilität der betreffenden Gebilde den angewandten Methoden gegenüber hinweist, was mit früher gewonnenen Erfahrungen gut übereinstimmt¹⁾. Man wird zwar diese lädierten Formen an ihrer auffallend blassen Farbe, an ihrer verzerrten Gestalt, die vielfach an myelinähnliche Bildungen erinnert, meistens leicht erkennen können, immerhin lassen gerade diese Verhältnisse ein Urteil über die Häufigkeit der einzelnen Formen vorläufig nicht zu, sie zwingen ferner zur größten Reserve bei der Beurteilung der einzelnen Formen und ihrer der Norm entsprechenden Gestalt, ganz abgesehen davon, daß sie bei oberflächlicher Beobachtung der Deckglaspräparate aus den frischen Lymphdrüsen zunächst geradezu verwirrend wirken können und zur größten Vorsicht bei dem Studium der einzelnen Formen mahnen. Nur solche Formen werden hier berücksichtigt, bei welchen keinerlei Zeichen einer Läsion ihrem Aussehen nach kenntlich waren. In dem älteren Leichenmateriale (2 Tage p. m. entnommen) fehlen alle geißelführenden Formen, worauf noch zurückzukommen sein wird.

Auch die geißelähnlichen Bildungen in den frischen Lymphdrüsen-
ausstrichen können stellenweise verzerrt und verzogen sein, es fehlt dann meistens der so elegante und feine Schwung des Geißelfadens, sie sind dann oft abgeplattet und erscheinen dicker und blasser gefärbt als die nicht lädierten Formen, können aber meistens noch als den Geißelbildungen zugehörig erkannt werden; ich habe den Eindruck gewonnen, daß unter diesen Elementen lädierte Formen seltener sind als unter den geißelführenden Körpern. Für die weitere Fortführung dieser Untersuchungen wird es unumgänglich notwendig sein, sich nach einer anderen Fixationsmethode umzusehen, welche diese oben erwähnten Uebelstände zu umgehen gestattet. Die Beobachtung des frischen, nicht behandelten Lymphdrüsensaftes im hängenden Tropfen wird dabei in erste Linie zu treten haben, um festzustellen, ob diese geißelführenden Körper und geißelähnlichen Bildungen bewegliche Gebilde darstellen, was ja von vornherein sehr naheliegend ist, und um über die Art dieser Bewegungen einen Aufschluß zu erhalten.

Für die Beurteilung der hier beschriebenen geißelführenden Bildungen ist die Frage nach der Zahl der Geißeln bei den einzelnen Formen von großer Wichtigkeit. In dieser Beziehung sei hervorgehoben, daß ich bei den eigentlichen geißelführenden Körpern (Fig. 17), die bei dieser Frage hauptsächlich berücksichtigt werden müssen, in der Regel nur einen Geißelfaden von der bereits beschriebenen Gestaltung an dem einen mehr zugespitzten Ende des Körpers, vielleicht sein vorderes Ende, gesehen habe. Nur bei einzelnen an beiden Enden zugespitzten, kahn- oder wetzsteinartigen Formen [Fig. 17 (2, 8), Fig. 19 (1), Fig. 21 (2)] hatte ich den Eindruck, daß auch von dem anderen spitzen Ende des Körpers ein meistens nur ganz kurzes, geißelartiges Fädchen abgehe. Doch kann hierbei immerhin nur eine besonders scharf ausgezogene Zuspitzung dieses Körperendes vorliegen, während das am anderen Körperende vorhandene, fadenförmige Gebilde, sofern es nicht als abgerissen oder lädiert

1) Vgl. Die Leukämie als Protozoeninfektion u. s. w. Wiesbaden 1900. p. 268, ferner Zieglers Beiträge. Bd. XXVIII. 1900. p. 430 f., ferner Zeitschr. f. Heilkunde, Abt. f. path. Anat. Bd. XXII. 1901.

angesprochen werden muß, den entschiedenen Eindruck eines Geißelfadens macht.

Nur in dem in Fig. 21 (2) abgebildeten Falle scheint ein Körperchen mit je einem kurzen Geißelfaden an den beiden spitzen Polen des Körperchens vorzuliegen. In einem anderen Falle (Fig. 22), der sich auf das der 3-stündigen Leiche entnommene Jugularisblut bezieht, fand ich ein geißelführendes, relativ großes Körperchen, bei welchem außer dem typischen, wenn auch nicht sehr langen, Geißelfaden an dem einen Ende zwei geißelähnliche Bildungen auch an dem anderen Ende sichtbar waren, die sich zu dem unmittelbar danebenliegenden Lymphocyten hinbegaben. Aber diese beiden geißelähnlichen Bildungen zeigten eine viel dunklere und entschieden mehr blaue Färbung als der typische Geißelfaden, sie waren ferner deutlich zackig und eckig und ließen den Verdacht aufkommen, daß es sich dabei um abgelöste Protoplasmafäden des betreffenden Lymphocyten, nicht aber um geißelartige, von dem deutlich roten, geißelführenden Körperchen abgehende Bildungen handelt.

Ich möchte also vorläufig die Frage, ob die beschriebenen geißelführenden Körper außer dem einen typischen Geißelfaden noch andere sogenannte „Schleppgeißeln“ besitzen, völlig offen lassen und nur daran festhalten, daß die beschriebenen geißelführenden Körperchen nur einen, oft sehr langen Geißelfaden erkennen lassen, der manchmal an seinem Ende eine punktförmige Anschwellung besitzt. Diese Einzahl der Geißel könnte nun für die Klassifikation der geißelführenden Körperchen, wenn sie sich tatsächlich als belebte und bewegliche Gebilde erweisen, insofern von Bedeutung sein, als sie damit auf Grund des Systems von Doflein¹⁾ die beiden Hauptmerkmale der Familie der *Cercomonadidae* (1. Ordnung: *Protomonadinae*; 1. Unterklasse: *Flagellata*; 2. Klasse: *Mastigophora*; I. Unterstamm: *Plasmodroma*), d. i. Fehlen der undulierenden Membran, eine Geißel am Vorderende, in sich vereinigen würden. Doch soll mit dieser Vermutung, deren Berechtigung erst durch weitere Beobachtungen festzustellen sein wird, weiteren Untersuchungen in keinerlei Weise vorgegriffen werden. Denn selbst wenn die betreffenden Gebilde sich als Lebewesen erweisen, so könnte doch auf Grund der bisherigen Erfahrungen eine gesicherte Klassifikation derselben gar nicht vorgenommen werden, da die bisher bekannten Merkmale derselben eine Einreihung in andere Klassen der Protozoa (*Sporozoa* oder Entwicklungsstadien derselben) nicht geradezu ausschließen würden.

Was nun die Lagerung der geißelführenden Körperchen und der geißelähnlichen Bildungen überhaupt im Ausstrichpräparate des frischen Lymphdrüsenmaterials anbelangt, so sind dieselben an solchen Stellen am zahlreichsten auffindbar, an welchen die Lymphocyten wahrscheinlich infolge des Aktes des Ausbreitens des Organsaftes mehr auseinandergedrängt liegen, wenn sie auch an Stellen, wo die Lymphocyten dichter nebeneinander gelagert sind, in den Zwischenräumen zwischen denselben gelegentlich ganz deutlich erkannt werden können (Fig. 20). Sind die Lymphocyten im Ausstrichpräparat infolge einer zu starken Ausbreitung des Tropfens am Deckglas stark verzogen und abgeplattet, wobei dann in der Regel auch reichlich sogenannte „Lymphocyten Schatten“ im Gesichtsfeld vorhanden sind, so wird man vergeblich nach gut erhaltenen, geißelführenden Formen fahnden, meistens sind sie an solchen Stellen überhaupt nicht kenntlich, während sie an benachbarten, aber schwach ausgebreiteten Stellen sicher nachweisbar sind. Jedenfalls ist mithin die Art der Aus-

1) Doflein, F., Die Protozoen als Parasiten und Krankheitserreger. Jena 1903.

breitung auf dem Deckglase von großer Wichtigkeit für die Erkennung der betreffenden Körper. Aber auch da, wo die Lymphocyten ganz dicht aneinander gedrängt liegen, sind gut charakterisierte Geißelformen nicht kenntlich. Dieser Umstand läßt es von vornherein unwahrscheinlich erscheinen, ob es möglich sein wird, die betreffenden Bildungen in Schnittpräparaten nachzuweisen; diesbezügliche Untersuchungen sind noch im Gange.

Es scheint also, daß den geißelführenden Bildungen in den frischen Lymphdrüsen hauptsächlich eine intercelluläre Lagerung zukommt, daß bei der durch die Präparation bedingten räumlichen Trennung der einzelnen Lymphocyten die zwischen ihnen gelegenen geißelführenden Gebilde frei und dann der Erkennung zugänglich gemacht werden. Die Reichhaltigkeit der geißelführenden Elemente, namentlich aber der freien, geißelähnlichen und der mit punkt-, knopf- oder ringförmigen Anschwellungen an den Enden versehenen, geißelähnlichen Formen, kann dabei an einzelnen Stellen des Präparates bei günstigen Färbungsbedingungen eine ganz erstaunliche sein, während sie an benachbarten Stellen weit spärlicher liegen. Jedenfalls sind sie unter passenden Verhältnissen nahezu in jedem Gesichtsfelde nachweisbar, selbst wenn man von den in der Regel zahlreich vorhandenen, lädierten Formen völlig absieht. Dabei muß aber vor allem ausgeschlossen werden, daß diese geißelführenden Elemente nicht Kunstprodukte irgendwelcher Art sind, die bei der Präparation in dem Zwischengewebe, oder von den Lymphocyten ausgehend erst gebildet werden.

In dem Zwischengewebe kann als Quelle des Irrtums das bindegewebige Maschenwerk in Betracht kommen, das als Stützwerk der zelligen Elemente in den Lymphdrüsen dient und vielleicht zu Verwechselungen mit den geißelähnlichen Bildungen Veranlassung geben könnte. Aber ganz abgesehen von der so typischen und charakteristischen Beschaffenheit dieser Bildungen, die schon an und für sich eine Verwechselung mit anderen Elementen ausschließt, ist die Färbung der hier und da im Präparate nachweisbaren, bindegewebigen Fäden rein blau oder doch überwiegend blau. Auch Faltungen, Zerrungen oder gelegentlich vorhandene Niederschläge in dem Zwischengewebe sind als solche leicht zu erkennen. Die Auffassung dieser geißelähnlichen Bildungen als Nervenfibrillen, Blutgefäß- oder Lymphgefäßsprossen muß im wesentlichen aus den gleichen Gründen abgelehnt werden, und eine Verwechselung mit Zellgrenzen überhaupt, eventuell mit der gelegentlich ähnlich geschlängelten Erythrocytenmembran¹⁾ kann leicht vermieden werden; übrigens sind die hier beschriebenen geißelähnlichen Bildungen, wie die noch zu erwähnenden Kontrolluntersuchungen ergeben haben, in anderem frischen Lymphdrüsenmateriale nicht zu finden.

Bezüglich der Auffassung dieser Bildungen als Abkömmlinge von Lymphocyten ist zu bemerken, daß das Lymphocytenplasma sich bei der Methylgrün-Pyroninbehandlung bekanntlich meist leuchtendrot färbt, und daß daher abgerissene und ausgezogene oder verzogene Teile des Lymphocytenprotoplasma eine gewisse Aufmerksamkeit für sich in Anspruch nehmen müssen. Es ist nun schon seit langem bekannt, daß Protoplasma-teile von Lymphocyten, und namentlich von großen Lymphocyten, sich (in Trockenpräparaten) in manchmal ganz merkwürdigen Formen vom Zelleibe ablösen und dann mit ihm noch zusammenhängend oder von ihm getrennt als selbständige Gebilde imponieren können, sie sind mehr-

1) Vgl. Loewit, Zieglers Beiträge. Bd. XLII. 1907. p. 565.

fach beschrieben und abgebildet worden¹⁾. Ebenso kann eine Verziehung und Zerrung des Lymphocytenprotoplasma zu fädigen Bildungen zweifellos vorkommen; alle diese Verhältnisse können in den diesbezüglichen Präparaten leicht konstatiert werden.

Aber ich halte es für ausgeschlossen, daß bei einiger Aufmerksamkeit eine Verwechselung dieser oder ähnlicher Kunstprodukte²⁾ mit den geißelführenden Körpern und den freien, geißelähnlichen Bildungen möglich ist. Schon der eigenartige Farbenton, dann aber vor allem die so regelmäßige und in der Hauptsache immer wiederkehrende Gestalt und Beschaffenheit dieser Elemente, ihre vorwiegend intercelluläre und von den Lymphocyten oft ganz unabhängige Lagerung geben nach dieser Richtung hin ganz abweichende differenzielle Momente ihrer Erkennung und Unterscheidung ab³⁾. Im übrigen war im Vorausgehenden von gewissen färberischen Differenzen zwischen dem Lymphocytenprotoplasma und den geißelähnlichen Bildungen bereits die Rede. Ich kann auf Grund der zahlreichen Untersuchungen, die ich gerade nach dieser Richtung hin angestellt habe, nur sagen, daß die geißelführenden Körper und die geißelähnlichen Bildungen als selbständige Elemente, die keine Kunstprodukte und keine Zellerivate sind, in dem untersuchten Falle akuter großzelliger, lymphatischer Leukämie innerhalb des frischen Lymphdrüsenmaterials vorhanden sind, und daß dem weiteren Studium dieser Elemente jedenfalls Beachtung zu widmen sein wird. Gelingt es bei der Verfolgung dieser Frage, die so reichlich vorhandenen und die Beobachtung in so hohem Grade störenden, lädierten und verzogenen Formen dieser geißelführenden Gebilde auszuschließen, dann kann auch die Reichhaltigkeit ihres Nachweises wahrscheinlich noch eine viel größere sein, als sie es bereits in dem hier untersuchten Falle war.

Ein besonderes Augenmerk wurde auch der Frage zugewendet, ob die Anwesenheit von Fibrinfasern im Präparat nicht Veranlassung zu Täuschungen und zu Verwechselungen mit geißelähnlichen Bildungen geben könne. Es käme diesem Umstande allerdings eine größere Bedeutung mehr für die Bluttrocken- als für die Deckglaspräparate aus dem Organsafte der frischen Lymphdrüsen zu, da die Fibringerinnung hier doch weniger in Betracht kommt, immerhin müßte aber die Beziehung von Fibrinfasern zu den Geißelbildungen auch an diesen Organen näher verfolgt werden, da Veszprémi⁴⁾ bei 3 Fällen akuter lymphatischer Leukämie, deren Sektion gleichfalls bald nach dem Tode erfolgte, allerdings nur im Knochenmarke (in Schnittpräparaten), ein reichliches Fibrinnetz nachweisen konnte.

Die Untersuchung der 2 Tage p. mortem aus Lymphdrüsen, Milz und

1) Vgl. Ehrlich und Lazarus, Die Anämie. Wien 1898. p. 46. O. Naegeli, l. c. p. 115.

2) Eine Verwechselung mit normalen oder verzogenen Blutplättchen kommt hier nicht in Betracht, da diese Elemente im Lymphdrüsen Gewebe in irgendwie größerer Menge nicht vorkommen.

3) Eine Abstammung der geißelführenden Elemente aus dem Lymphocytenkern erscheint schon durch die Färbung ausgeschlossen, da sich bei der angewandten Methode im Kerne nur der Nucleolus, eventuell die intranukleären Körper rot färben. Ueber die Beziehung dieser letzteren zu den geißelführenden Körpern war im Vorausgehenden bereits die Rede. Die Blaufärbung der geißelführenden Elemente aber, wie sie etwa in Fig. 21 zur Darstellung kommt, kann durchaus nicht als Beweis ihrer Auffassung als Chromatinderivate angesehen werden. Dagegen spricht wohl ihr ganzes Aussehen und das Resultat der Färbungen, das in den Fig. 19, 20, 22—25, 27 zur Darstellung gebracht ist.

4) Virchows Archiv. Bd. CLXXXIV. 1906. p. 220.

Knochenmark angefertigten Trockenpräparate mit Weigerts Fibrinfärbemethode¹⁾ ergab völlig negative Resultate, ebenso in den frischen, 2 Stunden p. m. entnommenen Lymphdrüsen. Ein Gegensatz zu den Angaben Veszprémis erscheint damit nicht gegeben, da meine Untersuchungen sich zunächst ausschließlich auf Trockenpräparate beschränken.

Die geißelführenden Körper und die geißelähnlichen Bildungen sind bei nicht vollständiger Entfärbung schwach bläulich gefärbt und können schon dadurch, ganz abgesehen von der so charakteristischen Form von Fibrinfäden unterschieden werden, die übrigens in dem gegebenen Falle gar nicht vorhanden waren. Entfärbt man die nach Weigert gefärbten Präparate noch stärker, so verschwindet auch die Färbung der geißelähnlichen Bildungen, am längsten halten noch die geißelführenden Körper selbst der Entfärbung stand, doch geben auch sie endlich ihre Färbung ab, während die intranukleären Körper in den Lymphocytenkernen auch dann noch blaßbläulich gefärbt erscheinen.

Durch diese Beobachtungen erscheint es wohl ausgeschlossen, daß die geißelführenden Körper sowie die geißelartigen Bildungen überhaupt als Fibrin oder als zum Fibrinnetzwerk gehörig aufgefaßt werden können.

Für die Frage, ob die geißelführenden Gebilde auch bei anderen Erkrankungen innerhalb der Lymphdrüsen vorkommen, konnten die entsprechenden Kontrolluntersuchungen an älterem (2-tägigem) Leichenmateriale nicht vorgenommen werden, da diese Körperchen auch in dem entsprechenden Leichenmateriale der akuten lymphatischen Leukämie nicht, oder nicht mehr angetroffen wurden. Ich habe daher frische, dem ebengetöteten Tiere (Kaninchen und Meerschweinchen) sowie frisch exstirpierte menschliche Lymphdrüsen nach den oben angegebenen Methoden geprüft. Von menschlichem Materiale, das ich durch das besondere Entgegenkommen des Vorstandes der chirurgischen Klinik, Herrn Prof. Schloffer, erhielt, wofür auch an dieser Stelle mein bester Dank abgestattet sei, stand mir zur Verfügung:

- 1) eine völlig normale Lymphdrüse eines jungen Mannes;
- 2) und 3) tuberkulös infiltrierte Lymphdrüsen zweier verschiedener Fälle (Lymphoma colli);

4) carcinomatöse Lymphdrüsen bei einem Falle von Mammacarcinom, in welchen nur wenig normales Lymphdrüsengewebe noch vorhanden war.

Weder im Tier- noch im menschlichen Materiale konnten jemals irgendwelche geißelführende Gebilde aufgefunden werden, trotzdem auch hier reichlich Verziehnngen und Verzerrungen des Zellprotoplasma, Bindegewebsfibrillen, Faltenbildungen und sonstige Kunstprodukte vorhanden waren. In dem untersuchten Kontrollmateriale waren bei Mensch und Tier intercellulär in wechselnder, manchmal in recht bedeutender Menge rote, kleine, etwa die Größe eines halben Erythrocyten betragende, meist streng runde und deutlich granulいたe Körperchen vorhanden, welche zum Teil vielleicht den bekannten „tingibeln Körpern“ Flemmings²⁾, zum Teil abgerissenen oder freien Partikelchen des Lymphocytenprotoplasma, vielleicht auch durch die Präparation oder durch Zellendegeneration frei gewordener Nukleolarsubstanz angehören. Ich möchte mich jedoch eines bestimmten Urteiles über diese Gebilde enthalten, bemerke nur, daß sie auch in den Lymphdrüsen und auch in Milz und Knochen-

1) Fortschritte der Medizin. 1887. p. 228.

2) Archiv f. mikrosk. Anat. Bd. XXIV. 1885.

mark bei der untersuchten akuten lymphatischen Leukämie reichlich vorhanden waren. Eine Verwechselung dieser Elemente mit den geißelführenden Gebilden bei dieser Erkrankung, ja auch nur eine nähere Beziehung beider zueinander, halte ich für ausgeschlossen.

Im Fingerbeerenblute der Kranken und im Jugularisblute, 3 Stunden p. m. der Leiche entnommen, waren geißelführende Körper nur nach langem Suchen und in sehr spärlicher Zahl nachzuweisen (Fig. 22—27), sogenannte freie geißelähnliche Bildungen habe ich hier nicht auffinden können. Die geißelführenden Körper aus dem peripheren Blute zeigen in den wenigen (abgebildeten) Exemplaren, die überhaupt gesehen wurden, die gleichen Charaktere wie in dem frischen Lymphdrüsenmateriale, eine nochmalige Beschreibung kann daher hier entfallen. Eine Verwechselung dieser Körper mit den im Blute reichlich vorhandenen Blutplättchen halte ich auch hier schon der Färbung und der sonstigen Beschaffenheit dieser letzteren nach für unmöglich. Zwar vermögen die Blutplättchen bekanntlich namentlich in Trockenpräparaten hier und da zu fortsatz- oder pseudopodienähnlichen Formen Veranlassung zu geben¹⁾, aber auch in dieser Beziehung schützt die Eigenart und die Regelmäßigkeit der Gestaltung der Geißel an den betreffenden Körpern vor einer Verwechselung.

Immerhin wird es sich aber nicht empfehlen, zur Nachuntersuchung dieser Gebilde das periphere Blut zu wählen, da die geißelführenden Körper, zum mindesten in dem hier untersuchten Falle, daselbst nur in äußerst spärlicher Zahl vorkommen und es einer großen Geduldprobe bedarf, ehe man die eine oder die andere Form daselbst im Trockenpräparate zu Gesicht bekommt.

Ein gleichfalls vor kurzem auf der Innsbrucker medizinischen Klinik beobachteter Fall von chronischer gemischtzelliger Leukämie (myeloplastische Leukämie nach Pappenheim) gab Gelegenheit, das Fingerblut der Kranken mit den hier beschriebenen Methoden in mehreren Präparaten untersuchen zu können. Auch hier wurden nach langwierigem Suchen vereinzelte geißelführende Körper gefunden, die in Fig. 28 wiedergegeben sind. Ich will jedoch in eine nähere Beschreibung dieser Formen nicht eingehen, ehe nicht die Untersuchung frischen Drüsenmateriales möglich geworden ist; eine volle morphologische Uebereinstimmung dieser Formen (Fig. 28) mit den bei der akuten lymphatischen Leukämie beobachteten, dürfte aber schon auf Grund der Zeichnungen kaum angenommen werden können. Immerhin bestehen aber gewisse Ähnlichkeiten der hier wiedergegebenen geißelführenden Körperchen mit den von mir bereits früher beschriebenen und photographierten „Geißelformen“ bei Myelämie²⁾.

Ich bin mir der Unvollständigkeit der hier mitgeteilten Beobachtungen wohl bewußt, aber es war mir vorläufig, mit dem mir zu Gebote stehenden Materiale mehr zu erreichen, nicht möglich. Bei der Seltenheit von Leukämiefällen hier in Innsbruck und namentlich von akuten Fällen glaubte ich aber die erlangten Resultate doch gegenwärtig bereits mitteilen und die Nachprüfung derselben durch Andere ermöglichen zu sollen. Hierbei wird sich vor allem ergeben müssen, ob die Anwesenheit

1) Vgl. Weidenreich, Anat. Anzeiger. 1906. Ergänzungsheft zu Bd. XXIX. p. 168, ferner K. Schleich, Atlas der Blutkrankheiten etc. Wien, Berlin 1907. Taf. XIV. Fig. 26 u. Taf. XXI. Fig. 40.

2) Loewit, Ueber extracelluläre Formen der *Haemamoeba leukaemiae magna* (Zeitschr. f. Heilkunde, Abt. f. path. Anat. etc. Bd. XXII. 1901. Taf. X. Fig. 38—52.)



der geißelführenden Elemente in dem hier untersuchten Falle akuter lymphatischer Leukämie nur eine zufällige Begleiterscheinung war, oder ob diesem Befunde eine wesentliche Bedeutung für diese Form oder auch für andere Formen der leukämischen Erkrankung zukommt¹⁾. Jedenfalls aber erscheint mir durch die hier niedergelegten Beobachtungen der Weg gezeigt zu sein, der einzuschlagen sein wird, um sowohl die weiteren morphologischen Studien nach dieser Richtung hin, als auch um eventuelle Infektionsversuche mit leukämischem Materiale zu fördern.

Tafelerklärung.

- Fig. 1. Großz. lymph. Leuk. Jugularisblut 3 Stunden p. m. Pyroninfärbung.
 Fig. 2—7. Lymphocyten aus einer Halslymphdrüse, Mensch, frisch extirpiert, Lymphoma colli (Tuberkulose) Giemsa-Pyronin.
 Fig. 8—15. Lymphocyten aus dem Jugularisblute bei akuter lymphat. Leuk. 3 Stunden p. m. Giemsa-Pyronin.
 Fig. 16. Lymphocyt aus Lymphdrüsenausstrich bei akuter lymph. Leuk. 3 Stunden p. m. Giemsa-Pyronin.
 Fig. 17—20. Aus Lymphdrüsenausstrich 3 Stunden p. m. angefertigt. Löffler warm, Methylgrün-Pyronin.
 Fig. 21. Aus Lymphdrüsenausstrich 3 Stunden p. m. angefert. Giemsa-Pyronin.
 Fig. 22—24. Aus Jugularisblut, 3 Stunden p. m. entnommen. Giemsa-Pyronin.
 Fig. 25—27. Aus Jugularisblut 3 Stunden p. m. entnommen. Löffler-Pyronin.
 Fig. 28. Aus Fingerblut eines Falles gemischtzelliger Leukämie. Löffler-Pyronin.
 Sämtliche Abbildungen sind bei Zeiss 2 mm homogener Immersion und Okular 2 gezeichnet; alles nähere im Text.

Nachdruck verboten.

Der Fraenkelsche Gasbacillus als Erreger lokaler Hautnekrose ohne Gasbildung im Tierversuch.

[Aus dem Hygienischen Institut zu Kiel (Geh.-Rat B. Fischer).]

Von Dr. **Hosemann**, Rostock, ehemaligem Assistenten des Instituts.

Seit Maisonneuve im Jahre 1853 die „gangrène gazeuse“ beschrieben und Pirogoff das klinische Bild in seinen „Grundzügen der allgemeinen Chirurgie“ so anschaulich geschildert hatte, hat die Gasphlegmone das besondere Interesse der Forscher auf sich gelenkt.

Aber erst in den letzten Jahren hat man durch häufigere bakteriologische Untersuchungen einen tieferen Einblick in die Aetiologie der Krankheit getan. Zwar hatten Welch und Nuttall schon 1892, Fraenkel 1893 den Gasbacillus gezüchtet und beschrieben. Die Ueberzeugung aber, daß er es ist, und nicht etwa der Bacillus des malignen Oedems, der die große Mehrzahl der menschlichen Gasphlegmonen erzeugt, hat sich erst nach und nach, an der Hand wiederholter und vertiefter Untersuchungen, gefestigt.

Noch sind die Fälle zu zählen, in welchen der Bacillus phlegmonis emphysematosae aus menschlichen Wundinfektionen gezüchtet wurde, und noch manche Frage über sein Wesen und seine Verwandtschaft zu den anderen Anaërobiern steht offen, wie denn über-

1) Der seither von Proescher und White (Münch. med. Wochenschr. 1907. No. 38) erhobene Befund von Spirochäten, welche an die Sp. pallida erinnerten, in Lymphdrüsen eines Falles von generalisierten Lymphomen (Syphilis?) dürfte wohl kaum in näherer Beziehung zu den geißelähnlichen Bildungen bei Leukämie stehen.

haupt das große Kapitel der anaërob wachsenden Bakterien gerade in letzter Zeit manche umwälzende oder doch an alten Anschauungen rüttelnde und neue Gesichtspunkte bringende Arbeit gesehen hat.

Aber vieles bleibt noch zu klären und zu erforschen übrig. Jeder auch noch so kleine Beitrag muß hier willkommen sein.

Im folgenden soll über die Isolierung eines Anaëroberierstammes aus einer beim Menschen beobachteten Gasphlegmone der Haut, über sein Wachstum und Verhalten im Tierversuch berichtet werden.

Frau M. aus K., 40 Jahre¹⁾.

Fistel nach Cholecystostomie und Hernia parumbilicalis. Radikaloperation in Chloroformnarkose (Prof. Helferich), mit subkutanen Kochsalzinfusionen an beiden Oberschenkeln. 2 Tage später Klagen über Schmerzen im l. Oberschenkel, mittags plötzlich Anstieg der bis dahin normalen Temperatur auf 39,5.

Befund: In der Umgebung der zweiten Infusionsstichöffnung ist die Haut in Kleinhantellerausdehnung weiß, gefühllos. Umgebung blaurot gefärbt. Puls, vorher voll, nicht wesentlich beschleunigt, jetzt kleiner, frequent (124). Abends Umgebung in größerer Ausdehnung tiefrot gefärbt, stark geschwollen. Hohes Fieber (39°). Puls weich, 148.

Excision des ganzen Herdes. Tamponade. 3 Längsincisionen in der Umgebung. Tamponade. Temperatur an den nächsten Tagen kaum noch erhöht. Laparotomie-wunde gut aussehend.

Später Transplantation. Heilung.

Das überhandgroße extirpierte Stück wurde dem Hygienischen Institut von Herrn Oberarzt Dr. Goebell in ganz frischem Zustand übersandt und kam sofort zur Untersuchung.

Es bestand aus Cutis und Subcutis, beide ödematös geschwollen, blutdurchtränkt. Bei Fingerdruck leichtes Knistern infolge subkutanen Emphysems. Leichter, süßlicher, im übrigen schwer zu beschreibender Geruch.

Im direkten Ausstrich fanden sich sehr zahlreiche grampositive Stäbchen von der Dicke des malignen Oedems; es überwiegen die kurzen Formen; häufig hängen zwei aneinander. Ketten sind nicht zu finden, dagegen wenige kurze Scheinfäden. Einige Stäbchen sind leicht und gleichmäßig gebogen. Eiterkörperchen werden nur in sehr geringer Zahl angetroffen; im übrigen nur einige gramnegative Stäbchen, meist kurz, von ähnlicher Gestalt (wohl ältere entfärbte Individuen derselben Art).

Es wurden mit der Oedemflüssigkeit verschiedene Nährböden geimpft, darunter auch frisch ausgekochte Agar- und Gelatineröhrchen in hoher Schicht.

Oberflächlich und streng aërob wuchsen kleine, sehr kurze gram-negative Stäbchen; sie zeigten meist stärkere Polfärbung und erinnerten ihrer Gestalt nach am ehesten an die Bakterien der Hühnercholera, auf festen Nährböden bildeten sie einen dichten weißen Rasen.

Sie erwiesen sich im Tierversuch als nicht pathogen und wurden nicht weiter verfolgt (siehe unten).

Die hochgeschichtete Agarverteilungskultur zeigte nach 20-stündigem Wachstum im Brutschrank in der Tiefe gut isolierte, weiße Einzelkolonien, die von dem anëroben Rasen durch eine 2 cm hohe unbewachsene Agarschicht getrennt blieben; bei weiterer Bebrütung wuchsen sie in Kugelform mit mehr oder minder stark gewellter zackiger Oberfläche. Durch Abimpfung von Einzelkolonien ließen sich anaërobe Rein-kulturen gewinnen.

1) Der Fall stammt aus der Königl. Chirurg. Univers.-Klinik; Herrn Geh.-Rat Prof. Helferich bin ich zu Dank verpflichtet für die freundliche Ueberlassung des Krankenjournal, das hier im Auszug wiedergegeben ist.

Aehnlich verhielten sich die mit der Oedemflüssigkeit beimpften hohen Gelatineröhrchen:

Im Stich bei Zimmertemperatur in der Tiefe sehr langsames fadenförmiges Wachstum, später unter Bildung feinsten härchenartiger, zum Stich senkrecht stehender Ausstrahlungen, die nach 5 Wochen am schönsten ausgebildet sind, dabei ganz allmähliche, erst nach Wochen deutlicher werdende trichterförmige Verflüssigung. An der Oberfläche wieder die aeroben Stäbchen in Reinkultur, die Gelatine nicht verflüssigend.

Die aus den Einzelkolonien der Agarverteilungskultur abgeimpften Anaërobie wurden auf den verschiedenen Nährböden weiter kultiviert, wobei sie folgendes Verhalten zeigten ¹⁾.

Bouillon: Nach 24-stündigem Aufenthalt im Brutschrank gleichmäßige Trübung; unter Zunehmen des anfangs geringen Bodensatzes durch Senkung der Bakterien klärt sich die Flüssigkeit im Laufe der nächsten Tage. Bei Zusatz von Traubenzucker üppiges Wachstum unter starker Gasbildung. Ranziger Geruch.

In Peptonwasser gedeihen die Bakterien nicht, in Zuckerpeptonwasser nur mäßig unter Gasbildung.

Milch: Bei Bruttemperatur (37°) sehr bald (meist schon nach 24 Stunden) totale Gerinnung unter lebhafter, schon nach wenigen Stunden einsetzender Gasbildung, bei leicht saurer Reaktion. Das Kaseingerinnsel bildet einen Cylinder von schwammigem Bau in wasserklarer Flüssigkeit. Schon früh beginnende Peptonisierung, die, in den einzelnen Röhrchen von etwas verschiedener Intensität, in mäßigen Grenzen bleibt und nach einigen Tagen zum Stillstand kommt. Deutlicher Buttersäure-, kein Fäulnisgeruch. Bleipapier nicht geschwärzt.

Gelatine: In den späteren Generationen kein Wachstum bei Zimmertemperatur. Bei 37° diffuse kleinflockige Trübung, Klärung nach 48 Stunden. Beim Erkalten bleibt der Nährboden flüssig. Bei Traubenzuckerzusatz etwas besseres Wachstum bei starker Gasbildung. Bei Zimmertemperatur sehr langsam verflüssigende, schwer angehende Kultur.

Agar: Streng anaërobes Wachstum bei 37°. Der Rand des Stiches ist stark gewellt, lockig; am unteren Teil zuweilen feine, kurze, wagerechte Ausstrahlungen. Bei Zusatz von Traubenzucker starke Gasbildung unter Auseinanderspaltung des Nährbodens, stark ranziger Geruch. Neutralrot wird reduziert.

In Glycerinagar gutes Wachstum, keine Gasbildung. Einzelkolonie locker, schneeflockenähnlich. Ältere Kulturen nahmen, besonders auf Gelatine und Glycerinagar, häufig eine gelbe bis braune Farbe an. Barsickow-Dextrose wird gerötet; weder Gerinnung noch Gasbildung. Barsickow-Laktose unverändert, spärliches Wachstum.

Auf Blutagarplatten unter Wasserstoffatmosphäre üppiges Wachstum, dicke weiße Kolonien mit glattem Rand. Die Plattenkulturversuche konnten leider nicht zum Abschluß gebracht werden, da die vorhandenen Kulturen, vielleicht weil sie nicht häufig genug übertragen wurden, zu gleicher Zeit ihr Wachstum einstellten.

Die kulturell gezüchteten Anaërobie boten im Ausstrich Bilder, die den beschriebenen, aus der Oedemflüssigkeit gewonnenen ersten Präparaten sehr ähnlich waren: Grampositive Stäbchen, die sehr häufig leicht gebogen sind ²⁾, zur Bildung von Doppelformen, auf manchen Nährböden (Bouillon, Agar u. a.) auch von kurzen 4—5-gliedrigen Ketten neigen, und oft zu kurzen oder längeren Scheinfäden auswachsen. Die kurzen sind nicht selten in der Mitte scharf geknickt und bilden so einen stumpfen Winkel von 100—130°, während die Ketten die Neigung haben, sich bogenförmig zu lagern, und die Glieder der Doppelstäbchen gern in gleichem oder entgegengesetztem Sinn gebogen sind und winklig aneinanderstoßen können. Verzweigungen wurden nicht beobachtet.

Die Stäbchen sind an den Enden abgerundet, einzelne zeigen an einem Ende eine leichte konische Verstärkung, ohne daß sich eigentliche Kolbenbildungen oder Clostridium-Formen finden lassen (Agar). Von einer Sporenentwicklung ist auf keinem der benutzten Nährböden etwas zu sehen, auch bei Sporenfärbung nicht. Außer einer geringgradigen Unregelmäßigkeit in der Färbung, die sich in Form kleinster, überall im Stäbchen auftretender ungefärbter Lücken zeigt, läßt sich keine Differenzierung des Protoplasmas nachweisen. Keine Blaufärbung durch Jod. Im einfachen hängenden

1) Es wurden zur Kultivierung anfangs lediglich frisch ausgekochte Nährböden in hoher Schicht benutzt, die flüssigen mit Paraffin überschichtet.

2) S. a. Welch und Nuttall, Hygien. Rundschau. 1892. p. 927.

Tropfen waren die Bakterien unbeweglich, dementsprechend auch die Geißelfärbung nach Zettnow negativ (frische Bouillonkultur).

Nicht selten wurde um die gefärbten Stäbchen eine ungefärbte Hülle (Kapselbildung) beobachtet. Die Kulturen wurden durch längeres Erwärmen auf 68° (1 Stunde) und kurzes Erhitzen auf 80° (1—1½ Minuten) abgetötet.

Tierversuche, ausschließlich an Meerschweinchen angestellt.

1) Impfung mit Reinkultur unserer Anaërobier.

Nach subkutaner Injektion (1 ccm eintägiger Bouillonkultur) zunehmendes Oedem und Hautrötung; nach 24 Stunden hat sich eine etwa markstückgroße, ziemlich prall mit Flüssigkeit gefüllte Blase gebildet durch Abhebung der blaßgrau oder mißfarben aussehenden, ödematös durchtränkten, weichen, leicht abschilfernden Epidermis. Kein Gas. Die Blase ist rund, scharf abgegrenzt, die umgebende Haut gerötet und geschwollen. Nach 48 Stunden hat sich die Blase meist noch vergrößert, die nächste Umgebung ist noch stärker geschwollen und gerötet und bildet eine scharfe Demarkationslinie, an der sich die nekrotische Haut abstößt. Das jetzt leicht eitrig belegte Geschwür trocknet aus und heilt rasch unter Heranziehung der benachbarten Haut. Bei dem Prozeß wird die Muskulatur wenig oder gar nicht in Mitleidenschaft gezogen.

Während der Infektion zeigen die Tiere keine sehr in die Augen fallende Beeinträchtigung ihres Allgemeinbefindens. Auch lokal scheint nur mäßige Schmerzhaftigkeit zu bestehen.

Die Größe der Hautgangrän war verschieden; zuweilen nekrotisierte nur die Mitte der anfangs entstehenden Blase in etwa 5-Pfennig- bis Bohnengröße. Es entstanden aber auch über fünfmarkstückgroße Geschwüre.

Zur Untersuchung der Oedemflüssigkeit wurde die eben entstandene Blase punktiert. Später tritt aus naheliegenden Gründen bald eine Verunreinigung und Sekundärinfektion des Geschwürs ein. Die Punktionsflüssigkeit war serös, leicht hämorrhagisch, enthielt nur wenige Eiterkörperchen.

Der nach Gram gefärbte Ausstrich zeigte ein Bild, das dem bei der Hautgangrän des Menschen beobachteten fast gleich, wieder überwogen die kurzen, plumpen Formen, es fanden sich aber auch Scheinfäden, zum Teil von erheblicher Länge, kurze Ketten von 3—5 Gliedern, und zahlreiche Doppelstäbchen, das einzelne mitunter fast kubisch. Selten sind leichte konische Anschwellungen. Häufig trifft man Phagocyten, vollständig mit den Bakterien vollgepfropft. Aus der Punktionsflüssigkeit wurden die Anaërobier in Reinkultur wieder gezüchtet.

Zum gleichen Tierversuch wurden statt der Bouillon- auch Agarkulturen benutzt, mit demselben Erfolg.

Bei intramuskulärer Injektion nimmt der Prozeß einen heftigeren Verlauf. Nach 24 Stunden ist die Impfstelle blutig suffundiert, die Muskulatur ist stark ödematös geschwollen, funktionstunüchtig.

So bildete sich z. B. bei Injektion von ¾ ccm 1-tägiger Bouillonkultur unter starkem Oedem der ganzen Extremität und der rechten Bauchhälfte eine Blase von 7 × 2,7 cm Größe; die sie bildende Haut nekrotisierte vollkommen, trocknete allmählich ein, demarkierte. Das Tier war einige Tage unlustig, schleppte die Extremität nach, erholte sich aber bald wieder. Es trat spontan vollständige Heilung ein unter so starker Hautheranziehung, daß die rechte Mamilla gerade auf dem Knie saß.

Auch hier wuchsen aus der frühzeitig punktierten Oedemflüssigkeit die Anaërobier in Reinkultur.

Bei demselben Tier wurde nach längerer Zeit eine zweite und größere intramuskuläre Injektion gemacht (1½ ccm Bouillonkultur in die rechte Schultermuskulatur).

Die Injektionsstelle und die Extremität schwellen etwas an unter mäßiger Rötung; zur Blasenbildung und Nekrose kam es aber nicht, die Symptome gingen schnell wieder zurück.

Andere ähnlich gehaltene Tierversuche ließen darauf schließen, daß durch Ueberstehen einer Infektion eine relative Immunität erzeugt wird.

Intraperitoneale Injektionen verliefen resultatlos. Nach sehr großen Dosen (5 ccm einer eintägigen Bouillonkultur) trat vorübergehend Unlust und Mattigkeit auf.

Injektionen ins Herz (bis zu 1 cc. Bouillonkultur) machten keine Krankheitserscheinungen.

2) Tierimpfung mit Mischkulturen.

Es wurden mehrfach subkutane Impfungen gleichzeitig mit unserem Anaërobier und dem isolierten Aërobier vorgenommen. Das Krankheitsbild war bei dieser Versuchsanordnung ganz das gleiche; auch die Intensität des Prozesses war nicht gesteigert.

Mischinfektionen mit Staphylokokken erlagen die Tiere nach mehreren Tagen.

Der Geschwürsgrund zeigte sich in diesen Fällen eitrig belegt, die entzündlichen Erscheinungen waren sehr stark, weit ausgebreitet, unter weitgehender Mitbeteiligung der Muskulatur, die ein stark verändertes, wie gekochtes, Aussehen hatte. Die Bauchwand war eitrig infiltriert, Leber und Milz brüchig, Niere und Leber trübe. Seröse Pericarditis.

In solchem Falle ließen sich die Stäbchen in geringer Zahl auch auf der Leberoberfläche nachweisen, ohne daß sie stärkere Neigung zur Faden- oder Kettenbildung zeigten. Aus dem Blut konnten Anaerobier nicht gezüchtet werden.

3) Subkutane Impfungen mit dem isolierten aeroben Stäbchen erzeugten kleine harte Infiltrate, die spontan wieder verschwanden; ausnahmsweise bildete sich ein kleines gutartig aussehendes Geschwür. Keine Oedeme; keine stärkeren entzündlichen Erscheinungen.

Wir haben es also mit einem in den Kulturen unbeweglichen, grampositiven, streng anaerob wachsenden, anscheinend auch kapseltragenden Stäbchen zu tun, das auf den gewöhnlichen Nährböden keine Versporung zeigt, zuckerhaltige Substrate unter lebhafter Gasbildung vergärt, Milch unter saurer Reaktion und Gasproduktion bei beschränkter Peptonisierung zur Gerinnung bringt und Gelatine langsam verflüssigt. Fäulnis erregte es jedenfalls nicht in stärkerem Maße.

Es unterscheidet sich demnach morphologisch und kulturell nicht von dem von Fraenkel und Welch beschriebenen Gasphlegmonebacillus.

Auffällig ist demgegenüber der Tierversuch.

Schon das vom Menschen stammende Ausgangsmaterial, aus dem sich der Gasbacillus mühelos züchten ließ, zeigte nur geringe Gasbildung. Meerschweinchen erwiesen sich für subkutane und intramuskuläre Injektionen empfänglich; es entsteht eine zirkumskripte, mit klarer seröser Flüssigkeit gefüllte Blase bei nur geringer entzündlicher Reaktion der Umgebung, die ödematös ist, aber Gewebsemphysem niemals beobachten ließ; daran anschließend eine lokale Hautnekrose, die spontan heilt. Das Resultat war in 14 Tierversuchen stets dasselbe, indem nur In- und Extensität des Prozesses geringen Schwankungen unterlagen. Nur einmal, bei intramuskulärer Injektion, fand sich in der 7 cm im Durchmesser messenden Blase ein kleines Gasbläschen. Der Inhalt der Blase bestand aus klarem, nicht blutigem Serum, aus dem Gasbacillen in Reinkultur gezüchtet wurden. Im direkten Ausstrich auch hier große Mengen des Fraenkelschen Bacillus bei nur geringer Leukocytenzahl. Mikroskopische Gewebsuntersuchungen wurden nicht angestellt.

Eiterung trat bei Reininfektion mit dem Gasbacillus nicht auf.

Intramuskuläre Injektionen unterschieden sich nur durch gesteigerte Intensität des Prozesses und durch stärkere Mitbeteiligung der Muskulatur, die vorübergehend eine bedeutende ödematöse Schwellung aufwies.

Intraperitoneale Impfungen waren ohne Erfolg, desgleichen Injektionen in die Blutbahn (Herz).

Wenn sich nun auch diese Tierversuche von dem „typischen Krankheitsbild“ Fraenkels nicht unerheblich unterscheiden, dadurch, daß einmal Gasbildung an der Infektionsstelle nicht oder nur in sehr geringem Maße auftritt, andererseits bei Reininfektion stets Spontanheilung eintritt und die Tiere nur Mischinfektionen unterliegen, so ist das doch kein genügender Grund, um anzunehmen, daß wir es hier mit einem anderen Organismus als dem Fraenkelschen Gasbacillus zu tun haben.

Dafür, daß derselbe Mikroorganismus nicht immer genau dasselbe Krankheitsbild hervorruft, auch wenn im allgemeinen ein bestimmter Typus des Infektionsverlaufes vorherrscht, finden sich viele Beispiele in der Bakteriologie.

Was die Gaserzeugung der Anaerobier im Tierkörper betrifft, so

vermag nach dem heutigen Stand unseres Wissens z. B. der *Bacillus* des malignen Oedems sehr wohl auch Gas im Tierkörper (Meerschweinchen) zu erzeugen, obwohl das typische Infektionsbild (Mensch) ein ausgedehntes hämorrhagisches Oedem ohne Gas ist¹⁾. Daher kann er auch als Erreger einer Gasphlegmone beim Menschen auftreten [Silberschmidt²⁾, Wicklein³⁾, Ghon und Sachs⁴⁾ u. A.] Umgekehrt fehlt bei der experimentellen Rauschbrandinfektion nicht selten die Gasentwicklung [Grassberger und Schattenfroh⁵⁾ u. A.]

Daß die Gasbildung im Tierkörper auch bei dem Fraenkelschen Gasbacillus je nach Art und Virulenz des Stammes gewissen Schwankungen unterliegt, dürfte demnach nicht wundernehmen. Und in der Tat hat Buday⁶⁾ mit seinem *Bacillus cadaveris butyricus*, der nach Ansicht der meisten Autoren identisch ist mit dem Fraenkel-Welch'schen Bacillus, beim Meerschweinchen nur kleine subkutane Infiltrate ohne Gas erzeugt, die bald wieder spontan schwanden, desgleichen Albrecht⁷⁾ mit dem aus Fall V und VII gezüchteten Bacillus, den er für den Fraenkelschen hält⁸⁾, während Bloodgood⁹⁾ beim Menschen in einem Amputationsstumpf nach Gasphlegmone einen Absceß fand, der kein Gas enthielt, aus dem er aber den Fraenkelschen Bacillus züchtete.

In unserem Falle, wo alle Infektionen das gleiche, feststehende Krankheitsbild boten, und Zufälligkeiten durch das Experiment ausgeschlossen wurden, haben wir es jedenfalls mit einem abgeschwächten Stamm zu tun. Das geht schon aus der Tatsache hervor, daß keins der Versuchstiere einging und daß das Allgemeinbefinden der Tiere selbst auf der Höhe des Krankheitsprozesses nicht eben sehr gestört war. (Allerdings wurden zur subkutanen Impfung niemals mehr als 1½ ccm Bouillonkultur verwandt, meist nur 1 ccm, wobei aber der dickere Bodensatz benutzt wurde. Nur zu intraperitonealen Injektionen, die alle ganz resultatlos verliefen, wurden bis zu 5 ccm Bouillonkultur genommen.) Auffallend ist dann nur, daß dieser weniger virulente Stamm niemals eine Eiterung erzeugte, da bei den in Frage kommenden Anaërobiern, wie auch beim Tetanus-, Rauschbrand- und Mal.-Oedembacillus die allgemeine Regel zu Recht besteht, daß je schwächer die Virulenz, desto stärker die Phagocytose ist, so daß die abgeschwächten Stämme schwächeres Oedem und stärkere Zellanhäufung hervorrufen¹⁰⁾. Demnach ist wohl die Annahme berechtigt, daß unser Stamm, was die Virulenz betrifft, einen mittleren Rangplatz für sich beanspruchen darf.

Avirulente und wenig virulente Stämme, wie sie Welch und Nuttal¹¹⁾, Buday (s. o.), Albrecht (s. o.), Muscatello und Gangitano¹²⁾ in den Händen hatten, bildeten nur kleine lokale Infiltrate, die spontan wieder zurückgingen oder — ohne Gasproduktion — zu

1) Ghon und Sachs, Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXXVI. p. 200.

2) Silberschmidt, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLI. p. 464.

3) Wicklein, Virchows Arch. Bd. CXXV.

4) Ghon und Sachs, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV u. XXXVI.

5) Grassberger und Schattenfroh, Arch. f. Hyg. Bd. XLVIII. p. 55.

6) Buday, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXIV. p. 369.

7) Albrecht, Arch. f. klin. Chir. Bd. LXVII. 1902.

8) Fraenkel selbst (l. c.) zieht allerdings in Zweifel, ob es sich hier tatsächlich um seinen Gasbacillus handelt.

9) Centralbl. f. Bakt. Abt. I Orig. Bd. XXXVI. p. 193.

10) Die von den genannten Anaërobiern im Tierkörper reichlich gebildeten Toxine wirken negativ chemotaktisch auf die Leukocyten.

11) Hygienische Rundschau. 1892. p. 927.

12) Münch. med. Wochenschr. 1900. p. 1303.

Abseß- und Geschwürsbildung führten. Beim Hund sah Welch nach subkutaner Injektion Eiterung ohne Gas, Fraenkel hingegen gashaltigen Eiter mit stärkeren Entzündungserscheinungen und Nekrotisierung des Unterhaut- und Muskelgewebes. Letzterer Infektionsverlauf ist aber wohl nicht der geringeren Virulenz des Stammes, sondern der geringeren Disposition des Versuchstieres zuzuschreiben.

Sehen wir übrigens von der Frage der Gasbildung ganz ab, so finden wir in der Schilderung des typischen lokalen Krankheitsbildes beim Meerschweinchen, wie sie uns Fraenkel (l. c.) in ausführlicher Weise gibt, eine weitgehende Uebereinstimmung mit unseren Tierversuchen, mit dem Unterschiede, daß dort die Intensität des Prozesses größer ist. Dementsprechend ist das Exsudat dort „blutig-wässerig“, während es hier rein serös oder nur ganz leicht getrübt ist. Hitschmann und Lindenthals¹⁾ Tierversuche stimmen mit denen Fraenkels vollkommen überein; größtenteils auch die von Kamen²⁾, der allerdings bei den ersten Tierversuchen (M.-S. VI, VIII, X, XI) von einer Gasentwicklung in der Blase oder im Gewebe nichts erwähnt, während er weiterhin (M.-S. XVIII, XIX, XX) von dem „typischen Befund“ einer „Gasblase“ spricht. Die Virulenz seiner beiden Stämme ist anscheinend nicht sehr hochgradig; erstens injiziert er sehr große Mengen (3—5 ccm Bouillonkultur, 1—3 Agarkulturen) und zweitens gehen auch bei ihm einige Fälle (XVIII, XXI) nach Entstehung eines Geschwürs (bei M.-S. XXI ohne Gasbildung) spontan in Heilung über, andere verlaufen resultatlos (M.-S. I, II, IX) oder zeigen nur eine geringe lokale Infiltration (XVII); M.-S. XIV endlich geht nach Entstehung einer handtellergroßen, schwappenden Blase (ohne Gas?) zu Grunde, zeigt aber Eiterstränge in der Muskulatur; die Züchtung ergibt Gasbacillen in Reinkultur. Bemerkenswert erscheint, daß ein Meerschweinchen nach intraperitonealer Impfung mit dem Gasbacillus unter den Zeichen einer Peritonitis einging (2 andere blieben gesund), und daß die intravenöse (!) Injektion von 1,5 ccm Bouillonkultur bei einem Kaninchen am 2. Tage zum Tode führte. Blutiges Exsudat in der Bauchhöhle. Reinkulturen von Gasbacillen auch aus dem Blut (!). Dieser Fall steht meines Wissens einzig da, da einerseits Kaninchen für den Fraenkelschen Bacillus wenig empfänglich sind, andererseits die Injektion in die Blutbahn auch beim Meerschweinchen ohne Erfolg bleibt. Kamen nimmt für diesen Fall eine besondere individuelle Disposition des betreffenden Kaninchens an, da zwei andere gleiche Impfungen ein negatives Resultat hatten. Legros³⁾ kommt auf Grund seiner Tierversuche zu dem Schluß, daß es beim Meerschweinchen 2 Typen von Gasangrän gibt:

Der 1. Typus entspricht dem Fraenkelschen Krankheitsbild und wird verursacht durch virulente Gasbacillen. Es tritt binnen 48 Stunden der Tod ein.

Der 2. Typus, durch wenig virulente Gasbacillen hervorgerufen, weist nur einen lokalen Affekt auf, dessen Höhepunkt nach 30 Stunden erreicht ist; es tritt Geschwürsbildung und Heilung ein.

Pathologisch-histologisch stellt der erste eine perakute Myositis dar mit Muskelzerfall unter dem Bilde der Koagulationsnekrose (hyaline,

1) Ueber die gangrène foudroyante. (Sitzungsber. d. Kaiserl. Akad. d. Wiss. in Wien. math.-naturw. Klasse. Abt. III. 1899. 1901.)

2) Zur Aetiologie der Gasphlegmone. (Centralbl. f. Bakt. Orig. Bd. XXXV. p. 554.)

3) Legros, Recherches bactériologiques sur les gangrènes gazeuses aiguës. [Thèse.] Paris 1902 und Arch. d. méd. exp. et d'anat. T. XV. 1903.

wachsartige, körnige und fettige Degeneration)¹⁾; der zweite zeigt neben denselben Vorgängen reaktive Heilungsprozesse: Hyperplasie des Sarkoplasmas, Vermehrung der Zellkerne, Einwanderung von Leukocyten, schließlich Narbenbildung.

Mit der Ansicht dieses Autors stimmen unsere obigen Ausführungen im großen ganzen überein. Darüber, daß in unserem Falle der isolierte Anaërobier, den wir mit dem Fraenkelschen Gasbacillus identifizieren, die Ursache der Gasphegmone und des ganzen Krankheitsbildes beim Menschen war, besteht wohl kein Zweifel. Schon im direkten Ausstrich des Gewebssaftes war er in großer Zahl vertreten, während die mitgezüchteten aeroben gramnegativen Stäbchen gar nicht gesehen wurden. Da letztere sich weder als tierpathogen erwiesen, noch überhaupt das durch den Gasbacillus hervorgerufene Krankheitsbild in irgend einer Weise zu beeinflussen vermochten, scheiden sie füglich aus der Betrachtung aus. Immerhin wäre es denkbar, daß sie dem Anaërobier das Wachstum etwas erleichterten. Eine große Rolle werden sie auch bei der menschlichen Gasphegmone nicht gespielt haben.

Anders steht es mit den Mischinfektionen mit Staphylokokken. Sie führten zu einer Schwere des Krankheitsbildes, wie sie sonst nicht beobachtet wurde; das Exsudat aus der Blase wurde trübe, eitrig, der Geschwürsgrund war dick mit Eiter belegt, die Tiere machten einen schwerkranken Eindruck und gingen ein. Gas fand sich auch hier nicht.

Nicht mit Unrecht sind die Mischinfektionen bei der Gasphegmone des Menschen so gefürchtet. Gerade die Kokken scheinen hier eine wesentliche und recht unangenehme Rolle zu spielen, während Mischinfektionen mit anderen Mikroorganismen, wie unsere Tierversuche zeigen, nicht immer gar so bössartig verlaufen.

Muscatello und Gangitano (l. c.) haben mit ihrem wenig virulenten Stamm des Gasbacillus nur dann beim Meerschweinchen Gasgangrän hervorrufen können, wenn sie der subkutanen Injektion eine Gewebsschädigung (Trauma, Ligatur, Injektion von Toxinen, von anderen Bakterien u. s. w.) vorausschickten. Von vielen Autoren wird hervorgehoben, daß auch beim Menschen der Gasbrand gerade nach schweren Gewebsläsionen, Quetschungen, komplizierten Frakturen u. a. zu entstehen pflegt. Demgegenüber stehen Infektionsmoden, wie in unserem Falle: es handelt sich lediglich um eine subkutane Kochsalzinfusion in gesundes Gewebe bei einem gesunden Individuum mit Nabelbruch und Gallenfistel. In dieser Beziehung schließt sich unser Fall den beiden Fraenkelschen (l. c.) an, die nach subkutanen Kampfer- und Moschus-Morphiuminjektionen auftraten. Er erinnert auch an die beiden klassischen, von Brieger und Ehrlich²⁾ beschriebenen Fälle von Gasgangrän des Menschen nach subkutanen Moschustinkturinjektionen bei zwei Typhuskranken.

Bei Welch³⁾, der 46 Fälle von Gasphegmone zusammenstellt, verursacht durch den Fraenkel-Welchschen Gasbacillus, finden sich ähnliche Fälle (auch nach Kochsalzinfusionen und kleineren chirurgischen Operationen).

1) Genaue histologische Untersuchungen der Gasgangrän finden sich im übrigen bei Fraenkel (Ergebn. d. allg. Pathol. und path. Anat. Wiesbaden 1904), Hitschmann und Lindenthal (l. c.), Albrecht (l. c.), Kropac (Arch. f. klin. Chir. Bd. LXXII. p. 111).

2) Brieger und Ehrlich, Berl. klin. Wochenschr. 1888. Es handelte sich um den Bacillus des malignen Oedems.

3) Welch, Morbid conditions caused by the Bac. aerogenes capsulatus. (Johns Hopkins Hospit. Rep. Sept. 1900.)

Aus welcher Quelle in unserem Falle der Gasbacillus stammte, ist nicht festgestellt worden. Weitere Infektionen kamen in der Klinik nicht vor. Umfassendere Arbeiten als diese haben die Ubiquität des Bacillus längst festgestellt. Er ist leicht aus Erde zu züchten (Hitschmann und Lindenthal l. c., Welch und Flexner)¹⁾, wurde im Zimmerstaub (Albrecht, Walker), in Dunggruben (Harris) nachgewiesen und findet sich häufig im normalen menschlichen Darm (Lindenthal und Hitschmann, Welch, Howard, Hirschberg und in der Vagina (Dobbin, Lindenthal), wo er als Erreger der Kolpohyperplasia cystica (Winckel) auftritt. Daher sind Uterusinfektionen nach Abort und im Puerperium nicht so selten beobachtet²⁾. Hierher gehören das puerperale Uterusemphysem und die Tympania uteri.

Auch aus mehreren Fällen von Mastoiditis und fötider Otorrhöe wurde der Gasbacillus isoliert³⁾.

Die Ansicht Westenhoeffers⁴⁾, daß der Gasbacillus ein Saprophyt sei, der nur auf totem Gewebe sich ansiedele und Gas bilde, wird durch unseren Fall ohne weiteres widerlegt.

Durch rechtzeitige Excision des ganzen Krankheitsherdes wurde die Gefahr beseitigt [siehe auch Welch und Flexner, Albrecht (l. c.)]; so konnte auch Fraenkel im Tierversuch durch frühzeitige energische Spaltung des Herdes den tödlichen Ausgang abwenden.

Was unsere kulturellen Resultate anbetrifft, so ist vielleicht erwähnenswert, daß deutlicher Schwefelwasserstoffgeruch in Agarkulturen nicht vorhanden war, wie auch stärkere Fäulniserscheinungen fehlten.

In Agarkulturen zeigten die Bacillen häufig eine leichte konische Anschwellung des einen Endes, in einer 20-tägigen waren diese sehr stark ausgesprochen, einzelne Stäbchen sahen fast trommelschlägerartig (wie Tetanus) aus. Sporen ließen sich aber nicht nachweisen. Diese Kultur ließ sich nicht mehr überimpfen. Ähnliches sah Kamen (l. c.) bei dem unbeweglichen Buttersäurebacillus, den er, wie Grassberger und Schattenfroh (l. c.) und v. Hibler⁵⁾ mit dem Fraenkelschen Gasbacillus identifiziert (denaturierter Typus).

Die Virulenz unseres Stammes nahm durch die Fortzüchtung auf künstlichen Nährböden, soweit wir dies beobachten konnten, nicht ab⁶⁾.

Fassen wir das Resultat unserer Untersuchungen kurz zusammen, so haben wir einen aus menschlicher Gasphlegmone gezüchteten Stamm des Fraenkel-Welchschen Gasbacillus, der einen mittleren Virulenzgrad besitzt, für Meerschweinchen pathogen ist, sie aber nur bei Mischinfektionen tötet. Bei subkutaner und intramuskulärer Injektion von Reinkultur entsteht ein lokaler Krankheitsherd unter Bildung einer großen, mit seröser Flüssigkeit gefüllten Blase ohne (ausnahmsweise mit nur ganz geringer) Gasbildung, mit daran anschließender Nekrose der abgehobenen Haut und Bildung eines Geschwürs, das spontan heilt.

1) Hygienische Rundschau. 1897. p. 947.

2) Siehe Little, Centralbl. f. Gynäkologie. 1905. No. 7. (9 Fälle.)

3) Siehe Rist, Etudes bactériologiques sur les infections d'origine otique. Paris 1898, und Neue Methoden und neue Ergebnisse im Gebiete der bakteriologischen Untersuchungen gangränöser und fötider Eiterungen. (Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Orig. Bd. XXX. 1901.)

4) Ueber Schaumorgane und die gangrène foudroyante. (Virchows Arch. Bd. CLXVIII.)

5) Centralbl. f. Bakt. Abt. I. Ref. Bd. XXXVII. p. 545.

6) Grassberger und Schattenfroh (l. c.) konstatierten bei einem denaturierten Stamm ihres Granulobacillus saccharobutyricus immobilis das Gegenteil.

Nachdruck verboten.

Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf den Menschen und Wiederimpfung der menschlichen Krankheit auf die Rinder.

[Aus dem Institut für Hygiene der königl. Universität Parma.]

Von Prof. E. Bertarelli.

Daß die Maul- und Klauenseuche den Menschen infizieren und somit mehr oder minder schwere Erkrankungen des Menschen hervorrufen kann, ist heutzutage allgemein angenommen, obwohl sich in der italienischen Literatur nur wenige diesbezügliche Mitteilungen vorfinden.

Dagegen findet man in dem Lehrbuche von Nocard und Leclainche¹⁾ über die Krankheiten der Haustiere, und in demjenigen von Roque und Gaillard²⁾ eine reiche Sammlung von Fällen, in welcher man sogar über menschliche Epidemien berichtet findet.

In Italien haben nur wenige Autoren (Monti und einige Andere) solche Fälle beschrieben, dagegen berichten die Aerzte der Zonen, welche am häufigsten von der Maul- und Klauenseuche heimgesucht werden, daß sie zur Zeit der tierischen Epidemien sehr oft unter den Menschen Krankheitsfälle beobachtet haben.

Es wurde auch schon versucht (Bayer), die Krankheit experimentell vom Tier auf den Menschen zu übertragen, und die Resultate dieser Versuche haben bewiesen, daß der Mensch tatsächlich für die Krankheit empfänglich ist.

Die Fälle, über die ich hier berichten will, sind deshalb von Interesse, weil mir durch dieselben Gelegenheit geboten wurde, einen Versuch anzustellen, welcher einen gewissen Wert hat und den Diskussionen über die Natur der Fälle von menschlicher Maul- und Klauenseuche während der tierischen Epidemien ein Ende macht. Ich habe nämlich die Impfung der Krankheit vom Menschen auf das Tier, d. h. auf die Rinder, vorgenommen.

Meine zwei Fälle stammen aus dem oberen Tale der Dora Baltea (Aostatal), wo im Juli und August 1907 eine ziemlich bedeutende tierische Epidemie von Maul- und Klauenseuche geherrscht hat. Die Epidemie hatte jedoch keinen besonders bösartigen Charakter, und nur wenige Tiere sind an der Krankheit gestorben. Als ich die Gegend zu hygienischen Zwecken besuchte, wurde mir mitgeteilt, daß einige mit der Viehhut beschäftigte Menschen von der Krankheit befallen worden wären.

Der Fälle, welche mir mitgeteilt wurden, waren mehrere, und die Mitteilungen lauteten so, daß man mit großer Wahrscheinlichkeit vermuten mußte, daß es sich tatsächlich um auf den Menschen übertragene Maul- und Klauenseuche handelte. Jedoch konnte ich wegen des großen Mißtrauens der Gebirgsleute und weil viele der Kranken in entfernten und nicht bequem zugänglichen Sennhütten wohnten, nur den kleinsten Teil der als infiziert angegebenen Fälle untersuchen.

Zwei Fälle konnte ich genügend untersuchen, bei denen jeder Zweifel

1) Nocard et Leclainche, *Les maladies microbiennes des animaux*. Paris (Masson) 1905.

2) Roque et Gaillard, *Les maladies de la brouche*.

ausgeschlossen war. Ich werde kurz über die klinischen Erscheinungen berichten:

1. Fall. O. Vauterin, 18-jährig. Beschäftigt mit der Wartung eines Stalles, in welchem sich einige aphthenseuchekranke Tiere mit großen Geschwüren am Maule befanden. Pat. erinnert sich, einzelnen Rindern das Maul geöffnet zu haben, um den Verlauf der Läsionen zu beobachten, und dabei die aphthösen Wunden berührt zu haben.

Anfang Juli trat leichtes Fieber auf, welches ihn jedoch nicht zum Bettliegen zwang, und von einigen Allgemeinerscheinungen, Appetitlosigkeit, Schwäche, Kopfschmerzen u. ä. begleitet war; zu gleicher Zeit empfand Pat. ein Dehnungsgefühl an der Zunge und an der Schleimhaut der unteren Lippe.

Am 5. Juli waren die Ränder und die Spitze der Zunge sehr entzündet und die Schleimhaut der unteren Lippe war auf einer 3 cm langen und 1,5 cm breiten Zone lebhaft gerötet. Nach 2 Tagen entstand auf der geröteten Zone eine, eine seröse Flüssigkeit enthaltende Blase, welche sich nach einem weiteren Tage öffnete und eine rote, geschwürige Fläche hinterließ. Die Ränder der Aphthe sind ziemlich scharf und der Uebergang vom gesunden zum erkrankten Gewebe ist ein brüsker; auf der roten Fläche der Aphthe sieht man hier und da kleine, schmutzig-weiße, punktförmige Fleckchen.

Als ich den Pat. zum ersten Male untersuchte, war die Temperatur wieder normal. Ohne Therapie (es wurden nur einige prophylaktische Maßregeln verschrieben) heilte die Aphthe innerhalb 14 Tagen. Nach der Heilung erkannte man noch deutlich die Stelle, wo die Aphthe ihren Sitz gehabt hatte, weil dort die regenerierte Schleimhaut eine blasse Färbung zeigte.

Die Ränder und die Spitze der Zunge waren in wenigen Tagen wieder normal geworden.

2. Fall. P. Colombo, 8-jährig. Die Infektion war in ähnlicher Weise wie bei Fall 1 erfolgt. Der Beginn der Aphthen war von leichtem Fieber und leichten Störungen des Allgemeinbefindens begleitet; Pat. wurde jedoch durch die Krankheit nicht zum Bettliegen gezwungen. Es bildeten sich Blasen auf der Schleimhaut der rechten Backe und der unteren Lippe. Als ich die Aphthe sah, hatte sie ungefähr die Größe einer gewöhnlichen Briefmarke. Es traten keine weiteren Erscheinungen auf und der Kranke war nach 12 Tagen geheilt.

Diese Fälle sind sehr einfach und bieten keine Gelegenheit zu besonderen Betrachtungen. Ohne Zweifel handelte es sich dabei um eine direkte Uebertragung der Krankheit vom Tiere auf den Menschen, woraus zu schließen ist, daß vom hygienischen Standpunkte zur Zeit von Aphthenseuche-Epidemien außer den üblichen die Milch betreffenden Maßregeln (bekanntlich gibt es Fälle, wo die Krankheit durch den Genuß von Milch oder von Milchprodukten auf den Menschen übertragen wurde) auch noch andere Maßregeln verschrieben werden müssen, bestehend in der gründlichsten Reinigung und Desinfektion der Hände nach jeder Berührung der erkrankten Teile der Tiere.

Was mich dabei am meisten interessierte, war die Feststellung, daß die menschlichen Aphthen tatsächlich von den Rindern herstammten.

Ich habe bereits erwähnt, daß vom epidemiologischen Standpunkte keine Zweifel mehr über die Möglichkeit der Uebertragung der Aphthenseuche von den Rindern auf den Menschen bestehen; ich habe des weiteren erwähnt, daß man auch experimentell die künstliche Einimpfung

der Krankheit auf die Menschen mit Erfolg ausgeführt hat. Um nun die wirkliche Natur der hervorgerufenen Läsionen nachzuweisen, fehlte noch die Weiterimpfung vom Menschen auf die Rinder.

Dieser Nachweis war nicht ohne Schwierigkeiten, denn wenn auch die Impfung ein positives Resultat gehabt hätte, hätte doch immer die Möglichkeit bestanden, daß die betreffenden Tiere bei der großen Ausbreitung der Epizootie auf natürlichem Wege infiziert worden wären.

Glücklicherweise konnte ich unter Mitwirkung einer intelligenten Person vom Orte einen Versuch ausführen, welcher sehr beweisend ist und auch jeden Einwurf ausschließt.

In einigen Seitentälern der Dora Baltea (Valtournambe) wird eine empirische Methode einer antiaphthösen Impfung angewendet, welche darin besteht, daß dem betreffenden Tiere ein Bindfaden durch ein Ohr gezogen wird, welcher vorher mit dem Speichel eines Kalbes benetzt worden ist, in dessen Maul sich Aphthen befinden. Nach einigen Tagen findet man am Ohr, an der Stelle der Durchbohrung, eine rote Zone, ein mehr oder weniger ausgedehntes Oedem, und einen kleinen oberflächlichen Gewebsverlust, welcher sich manchmal ausdehnt und vertieft und zu einem teilweisen Verluste des Ohrläppchens führen kann. Ob diese Methode tatsächlich nützlich ist, kann ich nicht sagen; ich habe aber die Gelegenheit benutzt, um mir ein Kalb zur Verfügung stellen zu lassen, mit welchem ich meinen Versuch anstellen konnte.

Die Einimpfung wurde an zwei Stellen, d. h. an einem vorher gründlich rasierten und gewaschenen Ohr und an der Unterlippe eines aus einem nicht infizierten Stalle herstammenden Kalbes ausgeführt. Ich zog durch das Ohr einen dünnen Bindfaden, den ich nach der bereits erwähnten Methode mit Material aus der Aphthe des Kranken 1 beschmutzt hatte; von demselben Material strich ich ein kleines Quantum auf die Unterlippe des Kalbes, nachdem ich dieselbe sanft abgeschabt hatte, ohne jedoch die Schabung bis zu einer Blutung fortzusetzen.

An der Lippe bestand am 5. Tage nach der Impfung eine intensive Rötung, welcher eine typische Aphthe folgte. Am 10. Tage glich dieselbe vollständig den gewöhnlichen Aphthen, welche man bei den Rindern beobachtet.

Am Ohr bildete sich am 5. Tage ein nicht sehr ausgedehntes Oedem mit Schwellung des ganzen Ohres, welchem die Bildung eines Geschwürs folgte. Am 12. Tage fiel ein Schorf ab und die Wunde ging langsam zur Heilung über.

Es konnten keine bakteriologischen Untersuchungen ausgeführt werden, über deren Resultate man übrigens von Anfang an sehr skeptisch sein durfte; ich konnte auch nicht prüfen, wie sich das Tier gegen das Virus der Rinder-Aphthenseuche verhielt.

Jedenfalls ist damit zum ersten Male mit Sicherheit die Uebertragung der menschlichen Aphthenseuche (welche man als von Rindern herstammend mit großer Wahrscheinlichkeit ansehen kann) auf Rinder mit Erfolg ausgeführt worden und jede Einwendung gegen die wirkliche Natur der beobachteten, menschlichen aphthösen Stomatitiden verliert damit jeden Wert. Es bleibt auch festgestellt, daß die menschliche Aphthenseuche, obwohl sie eine bedeutende Gutartigkeit aufweist, doch für die Rinder ansteckend ist.

Nachdruck verboten.

Ueber eine bei Menschen und Ratten beobachtete Mykose.

Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Sporotrichosen.

Von Dr. Adolph Lutz und Alfonso Splendore in São Paulo (Brasilien).

Mit 4 Tafeln.

I. Allgemeiner Teil.

Das Material zur vorliegenden Studie wurde durch eine Reihe von Jahren gesammelt und war schon vor zwei Jahren ebenso vollständig, wie heute, nur zögerten wir mit der Publikation, weil die Klassifikation des Pilzes große Schwierigkeiten machte. Auch hofften wir, aus menschlichen Erkrankungen neues Material zu gewinnen, eine Hoffnung, die indessen leider nicht in Erfüllung ging. Neuerdings haben wir nun in der Literatur Angaben gefunden, welche sich auf ganz ähnliche Beobachtungen beziehen, und es scheint uns daher angebracht, die in absolut unabhängiger Weise und in einer weit entfernten Region gemachten Beobachtungen ebenfalls zu veröffentlichen.

Einer von uns (Lutz) kannte schon vor vielen Jahren eine in São Paulo bei der Wanderratte (*Mus decumanus*) gelegentlich spontan auftretende Affektion; doch gaben die darüber gemachten Studien aus Mangel an größerem Materiale nur für eine allgemeine Orientierung genügende Anhaltspunkte. Durch das Auftreten von Pestfällen in hiesiger Stadt bot sich uns dann Gelegenheit, Tausende von Ratten systematisch zu untersuchen und auf diese Weise ein reichhaltiges Studienmaterial zu gewinnen. Es gelang uns so, einen Pilz direkt zu beobachten und zu isolieren, mit dessen Kulturen wir ebenso leicht, als mit einer direkten Verimpfung der erkrankten Gewebeteile die erwähnten Läsionen reproduzieren konnten. Endlich beobachteten wir auch spontane Erkrankungen, die unter den im Institut gezüchteten weißen Ratten auftraten, so daß wir nach und nach ein Beobachtungsmaterial von mehr als 40 infizierten Tieren zusammenbrachten.

Die häufigste Form unserer Mykose, die wir bei spontaner Entstehung an Ratten beobachteten, besteht aus Läsionen, die an den Extremitäten oder am Schwanz lokalisiert sind. Dabei zeigt sich gewöhnlich in der Fußwurzelgegend einer oder mehrerer Extremitäten oder an irgend einem Punkte des Schwanzes eine lokale Anschwellung, welche an die Affektionen erinnert, die beim Menschen durch Knochen- und Gelenktuberkulose hervorgerufen werden. Die äußeren Schichten sind ödematös und zeigen oft eine oder mehrere Fisteln, aus welchen die zentral gelegene Masse in Form eines käsigen Eiters austreten kann. Dieser durchsetzt die Gewebe, welche die Knochen bedecken oder trennen, seltener auch die Markhöhle der letzteren, während der kompakte Knochen sich sehr resistent erweist, wie sich aus Radiographien gut erkennen läßt.

Wenn Fisteln vorhanden und wie gewöhnlich im Verhältnis zum Tumor sehr weit sind, so enthält der Eiter in der Regel eine Menge verschiedener Bakterien und riecht stark nach faulenden Eiweißkörpern. Deshalb erwies sich die Isolierung des Krankheitserregers, der zuerst unter den Spaltpilzen gesucht wurde, als ziemlich schwierig. Da es jedoch mit den isolierten Arten nicht gelang, die Krankheitserscheinungen zu erzielen, welche der verimpfte Eiter hervorbrachte, suchten wir nach anderen

Organismen und fanden bei Aufhellung mittelst Kali- oder Natronlauge zu verschiedenen Malen in den Präparaten Fragmente eines größeren Pilzes, der teils sproßpilzartige Formen zeigte, teils Mycelstücke, deren Glieder oft etwas elliptisch waren und an die Formen erinnerten, wie sie bei Soor und Dermatomykosen beobachtet werden. In geschlossenen Läsionen wurden sie dann häufiger gefunden, wodurch die Wahrscheinlichkeit, daß es sich um den eigentlichen Krankheitserreger handle, bedeutend zunahm. Soweit orientiert, benutzten wir nun Nährböden, welche für Bakterien weniger günstig und mehr für Sproß- und Fadenpilze geeignet erschienen. Auf diese Weise erhielten wir ohne Schwierigkeiten einen Organismus, der allerdings einen gewissen Polymorphismus aufwies, bei dem jedoch die verschiedenen Formen stets in derselben Reihenfolge auftraten und dieselben mikroskopischen Befunde den makroskopischen Veränderungen in der Kultur entsprachen.

Bei Abwesenheit jeglicher Verunreinigung erschienen in der Kultur zuerst weiße, etwas erhabene Kolonien mit glatter, etwas feuchter und glänzender Oberfläche, die nur Sproßpilzformen aufwiesen. Nach verschieden langer Zeit wird die Oberfläche trockener und fein filzig, wobei auch die Farbe matter erscheint. Es ist dies eine Folge des Auswachsens der Hefeform in elliptische, aneinander gereihte Zellen und schließlich in cylindrische Hyphen, die nach einiger Zeit zahlreiche end- und seitenständige Sporen hervorbringen, die erst weiß sind, aber nach und nach eine sehr dunkle Farbe annehmen, welche an Schimmelsporen erinnert. Makroskopisch äußert sich diese Veränderung durch eine zunehmende dunkle Verfärbung der Kolonien, welche zuerst in zentralen Partien auftritt. Am Ende der Entwicklung erinnern die Kulturen an Schimmelpilze, von denen sie jedoch durch die Art der Fruktifizierung immer leicht zu unterscheiden sind. Die zu diesem Entwicklungsgange nötige Zeit schwankt je nach Temperatur, Nährboden und anderen unbestimmten Einflüssen. So kann das erste Stadium sehr lange dauern oder kurz sein, und selbst wenn die Kultur öfters übergeimpft wird, ganz fehlen; das letzte Stadium der Sporenreife, welches gewöhnlich sehr verzögert ist, kann einerseits auch sehr frühzeitig auftreten, andererseits auch während einer langen Beobachtungsdauer ganz ausbleiben. Trotzdem ist ein Zweifel an dieser Entwicklungsweise ganz ausgeschlossen, da sie wiederholt unter dem Mikroskope verfolgt wurde und außerdem alle die verschiedenen Phasen dieselbe Infektion hervorrufen.

Bei der spontanen Erkrankung der Ratten sind die primären und wichtigsten Läsionen die bereits beschriebenen, die sich auch leicht während des Lebens beobachten lassen. Ihre Lokalisation und das Resultat gewisser Versuche deuten klar darauf hin, daß die natürliche Infektion durch Bißwunden entsteht, durch welche das kausale Agens in die Tiefe der Gewebe gebracht wird. In der Tat wurde der Pilz verschiedentlich aus der Mundschleimhaut isoliert und auch auf der Magenschleimhaut wurden morphologisch übereinstimmende Formen gefunden. Die äußeren Läsionen können außerdem an den anderen Extremitäten ähnliche Metastasen hervorrufen, was eine Vorliebe für diese Regionen anzudeuten scheint; daneben findet man aber auch interne Lokalisation in Form isolierter und wenig zahlreicher miliarer Tuberkel, die in Milz, Leber, Lungen Nieren, Geschlechtsdrüsen, dem Peritoneum und auf der Serosa der Brusthöhlen gefunden werden. Ihre Geringfügigkeit im Vergleich mit den Affektionen der Extremitäten deutet darauf hin, daß es sich um sekundäre Bildungen handelt.

Um die äußeren Läsionen zu reproduzieren, genügt es, eine Vaccinefeder mit Bestandteilen der Kulturen in irgend einem Stadium zu beladen oder mit dem Eiter einer äußeren Läsion oder einem zerquetschten Tuberkel und damit einen Stich in eine Fußwurzel oder den Schwanz einer weißen oder grauen Ratte auszuführen. In den ersten Tagen erfolgt keine lokale Reaktion, was beweist, daß die Bakterien des Eiters nichts mit dem Prozesse zu tun haben, der sich unter diesen Bedingungen immer sehr langsam entwickelt.

Auch durch Verfütterung der Kulturen läßt sich eine Infektion erzielen, deren Läsionen wenig ausgesprochen sind und die einen so langsamen Verlauf nimmt, daß es mehr als 6 Monate dauern kann, bevor sie durch allgemeine Kachexie tödlich endigt. In einem derartigen Falle fand sich multiple Verkäsung der Inguinal- und Mesenterialdrüsen und außerdem der Nebennieren, dazu noch kleine Ulcerationen am Schwanze. In dem käsigen Materiale fanden wir bei direkter Untersuchung die bekannten Formen unseres Pilzes, auch erhielten wir typische Kulturen und bei einer weißen Ratte die unten beschriebene Art der Infektion mit multiplen Knötchen in allen Eingeweiden.

Wenn man nun auch durch die eben beschriebene Methode nur eine langsam verlaufende Infektion erhält, bei welcher die Lokalaaffektionen den spezifischen Organismus nur in geringer Zahl enthalten, so kann man andererseits auch ein Krankheitsbild erzielen, welches durch seinen raschen Verlauf und die Extensität der Läsionen an eine subakute Miliartuberkulose erinnert, bei welcher größere, weißliche, submiliare Knötchen gefunden werden. Diese mykotische Pseudotuberkulose erhält man leichter nach einer Reihe von Passagen durch den Rattenkörper, indem man nur die dunklen (reifen) Sporen zur subkutanen oder intraperitonealen Injektion verwendet. Bei einer solchen reichlichen Infektion kann der Verlauf ein sehr rascher sein, indem er gewöhnlich 7–8 Wochen dauert, nur einmal, bei einer sehr jungen weißen Ratte, deren Abbildung wir geben werden, trat der Tod schon nach 2 Wochen ein, wobei schon sehr ausgesprochene Veränderungen in den inneren Organen gefunden wurden. Bei solchen massigen Einimpfungen reifer Sporen scheint die Entwicklung der Pilzelemente weniger Widerstand zu finden, als wenn man andere Entwicklungsformen benutzt. Die so erhaltenen Knötchen enthalten eine Unmasse, zum Teil degenerierter Pilzfragmente im Innern von kleinen knötchenförmigen Herden und finden sich in den verschiedenen Eingeweiden. Die Verschleppung durch den Blutstrom wird offenbar durch die Sporenform besonders begünstigt.

Für die Reproduktion der Infektion eignen sich die Wanderratten, sowohl in der grauen wie in der weißen Varietät. Auch die Hausratte (*Mus rattus*) läßt sich typisch infizieren. Während nun die Ratten als die geeignetsten Versuchstiere gelten können, sind die anderen Laboratoriumstiere, von den Mäusen abgesehen, wenig dazu geeignet. Bei einer Reihe von Versuchen erhielten wir einmal ein typisches Resultat am Fuße einer Beutelratte (*Didelphys azorae*) und durch intraperitoneale Injektion eine Allgemeininfektion bei einem Meerschweinchen. In diesem Falle beschränkten sich die Veränderungen auf die Lymphdrüsen, in welchen sowohl durch direkte Beobachtung, als durch Kultur die Pilze in großer Zahl nachgewiesen wurden. Wir haben jedoch Grund, anzunehmen, daß unser Pilz auch beim Menschen pathologische Erscheinungen hervorrufen kann, indem er einmal als Reinkultur von einem der nachstehend beschriebenen Fällen isoliert wurde.

Schon der erste hierher gehörige Fall, den ich vor Jahren beobachtete, imponierte als ungewohntes und für mich neues Krankheitsbild. Da ich den Verdacht hegte, es möchte sich um Hautrotz handeln, impfte ich Wundsekret und zerriebene Granulationen in ziemlicher Menge in die Bauchhöhle eines männlichen Kaninchens, ohne daß deutliche Krankheitserscheinungen nachgefolgt wären. Auch sah ich den Patienten später vollständig geheilt wieder. Als wir dann nach längerer Zeit wieder einen solchen Fall zu Gesicht bekamen, nahmen wir eine sehr genaue Untersuchung vor und es gelang uns, durch Aufhellung mittelst verdünnter Kalilauge im Eiter eines noch nicht eröffneten Abscesses ziemlich zahlreiche, zu einem Fadenpilz gehörige Elemente nachzuweisen. Auf passenden Nährböden wurden ohne weiteres Kulturen mit den oben geschilderten Charakteren erhalten, deren Farbe nach und nach von Weiß in grünliches Schwarz überging. Es wurden zahlreiche Ueberimpfungen gemacht und die Kulturen genau studiert, so daß über ihre Identität mit den Rattenkulturen kein Zweifel herrschen kann, obgleich wir damals aus Mangel an Ratten keine Resultate an Tieren erzielten und die Kulturen später verloren gingen. In 2 weiteren Fällen wurden zwar spärliche Pilzelemente nachgewiesen, einmal sogar in Schnitten, doch gelang die Kultur nicht, was sich teils durch Degeneration der Pilze, teils durch das massenhafte Auftreten von Bakterien erklärt. In einem 5. Falle, dessen Abbildung wir geben werden, waren zwar Ulcerationen in typischer Form und Anordnung vorhanden, doch ließen sich die Pilze nicht mehr nachweisen, wie denn auch keine frisch entstandenen Läsionen vorhanden waren.

Die 5 beim Menschen beobachteten Fälle boten alle dasselbe klinische Bild. Es fanden sich Geschwüre von geringer Tiefe und regelmäßiger, runder oder elliptischer Form mit granuliertem Grunde und stark unterminierten Rändern oder diesen vorhergehende Abscesse, die von Bohnen- bis etwa zu Zweimarkstückgröße variierten. Das Bild erinnert einerseits an Hautrotz, andererseits an Skrophuloderma oder manche Formen ulceröser Syphilide, doch können diese Diagnosen bei eingehendem Studium ziemlich sicher ausgeschlossen werden. Die Zahl der Geschwüre beträgt meist 6—10, selten mehr, und der Ausgangspunkt war in der Regel ein Finger oder der Handrücken, von wo aus die Affektion zentripetal fortschritt, so daß jede neue Lokalisation etwas entfernt von der letzten auftrat, mit welcher sie durch oberflächliche Lymphgefäße verbunden zu sein schien. Sie waren immer auf eine der oberen Extremitäten beschränkt und das Fehlen jeder Lymphdrüsenaffektion war ein konstanter und auffälliger Faktor. In allen Fällen wurde unter dem inneren Gebrauch von Jodkalium Heilung erreicht, doch war die Wirkung nicht in allen Fällen sehr rapide, und es mußte mehrmals auch eine chirurgische Behandlung eintreten, die in Exstirpation oder Auslöfflung bestand, während die entstandenen Defekte mit gutem Erfolge durch Transplantation gedeckt wurden. Diese Maßnahmen wurden größtenteils durch Dr. Seng ausgeführt, aus dessen Praxis 3 der Fälle stammten. Die Entleerung des Eiters schien eine günstige Wirkung zu haben, übrigens war meist die Decke über den Abscessen so gleichmäßig und ausgedehnt verdünnt, daß die spontane Perforation flächenhaft erfolgte und sofort zu den oben geschilderten Geschwüren führte.

Als wir diese Beobachtungen machten und niederschrieben, glaubten wir es mit ganz neuen Befunden zu tun zu haben, da wir weder über die Erkrankung der Ratten, noch über diejenige des Menschen und eben-

sowenig über den sie erzeugenden Pilz etwas auffinden konnten. Auch als ich vor nahezu 2 Jahren in Europa in zahlreichen Zentren der Wissenschaft mikroskopische und anatomische Präparate sowie Photographien vorlegte, gelang es mir nicht, etwas über ähnliche Prozesse zu erfahren. Weder im Institut Pasteur, noch bei den Herren Plaut, Buschke und Curtis war der Pilz oder ähnliche Krankheitsbilder bekannt und ebenso wenig wurde ich auf die schon längst erschienene erste Mitteilung von de Beurmann aufmerksam gemacht. Erst neuerdings fanden wir in der Literatur Referate von Arbeiten über Infektionsprozesse, welche mit den von uns beobachteten zweifellos nahe verwandt waren. Nicht ohne Mühe gelang es uns, die meisten der unten angeführten Arbeiten wenigstens zur Durchsicht zu erhalten, während wir andere, wie z. B. die grundlegende Arbeit von de Beurmann, nur aus Referaten kennen. Diese Krankheitsprozesse, welche von verschiedenen Autoren neuerdings beobachtet wurden, werden nach de Beurmann als Sporotrichosen bezeichnet und verdanken ihre Entstehung einem Pilze, der dem unsrigen anscheinend sehr nahe steht. Ob eine völlige Identität vorliegt, muß so lange unentschieden bleiben, bis es gelingt, eine genaue Vergleichung der Kulturen vorzunehmen.

De Beurmann und Gougerot unterscheiden 3 Arten von *Sporotrichum*, die von de Beurmann, Schenk und Dor isoliert und beschrieben wurden. Letzteres ist sicher von den anderen und auch von dem unsrigen verschieden, während es von den beiden ersten nach B. und G. noch zweifelhaft ist, ob es sich um 2 verschiedene Arten handelt. Die durch diese Pilze hervorgerufenen Krankheitsprozesse des Menschen nennen die französischen Autoren Sporotrichose cutanée et subcutanée (dermique oder hypodermique) und beschreiben sie als Abscesse, welche wenig Neigung zur Perforation zeigen, auf Jodkalium zurückgehen und nicht geöffnet werden sollen, um eine Infektion der Ränder zu vermeiden. Sie zitieren Fälle von amerikanischen Autoren: Schenk, Hektoen und Perkins, welche sie als Sporotrichosis lymphangitica gummosa bezeichnen und welche mit den unseren so große Ähnlichkeit zu haben scheinen, daß sie wohl klinisch als gleichwertig bezeichnet werden müssen. Es könnte sich alsdann mit dieser sogenannten Sporotrichose ähnlich verhalten, wie mit der sogenannten Blastomykose vom Typus Posadas-Wernicke, indem die Fälle nicht nur auf dem nordamerikanischen, sondern auch auf dem südamerikanischen Kontinente häufiger beobachtet wurden, denn auch von letzterer habe ich zwei sichere und einen wahrscheinlichen Fall gesehen. Allerdings war bei allen dreien die Krankheit in der Mund- und Rachenhöhle lokalisiert und hatte in einem Falle auch Lymph- und Speicheldrüsen invadiert, jedoch stimmt der mikroskopische und Kulturbefund mit den einschlägigen Fällen aufs beste überein. Nähere Mitteilungen muß ich indessen auf eine andere Gelegenheit versparen.

Was die Benennung des Pilzes betrifft, so scheint es uns unzweifelhaft, daß derselbe nach der Klassifikation von Saccardo und derjenigen im Sammelwerke von Engler und Prantl wegen seiner dunklen Sporen nicht zu *Sporotrichum* Link (*Mucedineae*), sondern zu *Trichosporium* Fr. Summa (*Dematiaceae* — nicht zu verwechseln mit *Trichosporium* Behrend) zu stellen ist. Da aber diese ganze Trennung sonst verwandter und paralleler Arten etwas gewaltsam und kaum berechtigt ist, könnte immerhin der Name Sporotrichosen wegen seiner Priorität weiter angewandt werden. Was die Kulturen anbetrifft, so fällt

es entschieden auf, daß das Hefenstadium, welches bei unserem Pilze eine so große Rolle spielt, weder von den französischen Autoren, noch von den früheren Mykologen hervorgehoben wird.

Bei den Resultaten der Tierexperimente sind die Uebereinstimmungen ziemlich groß, besonders seitdem B. und G. unser Experiment am Rattenfuße, das sie irrigerweise als Pinoysche Methode bezeichnen, mit positivem Resultate wiederholt haben. Im übrigen erwähnen sie die ausgebreitete Pseudotuberkulose, welche man durch Injektion der Sporen bei Ratten erreichen kann, in keiner Weise. Sie geben auch wiederholt an, daß die Pilze nicht sicher im Eiter oder in den Geweben nachgewiesen werden können. Dies stimmt nicht völlig mit unseren Beobachtungen, da auch bei spontanen Infektionen bei Menschen und Ratten die Pilze deutlich mikroskopisch nachgewiesen werden können. Es muß jedoch erwähnt werden, daß die Pilze rascher degenerieren und schließlich verkalken, wodurch sie schwer färbbar und in ungefärbtem Zustande bei mangelnder Uebung schwer erkennbar werden. Auch scheinen sie gerade bei spontanen Infektionen, die immer leichter sind, nach einem ziemlich kurzen Vegetationsoptimum seltener werden und schließlich ganz verschwinden zu können. Die Gewebeformen sind kümmerlich entwickelt und von einer allmählich zunehmenden Kapsel umgeben und unterscheiden sich daher von den Kulturformen wesentlich. Bei experimentellen Infektionen sind sie aber gewöhnlich ohne Schwierigkeiten zu finden und können unter Umständen in förmlichen Rasen auftreten, wobei man in einem Gesichtsfelde alle vorkommenden Formen sehen kann.

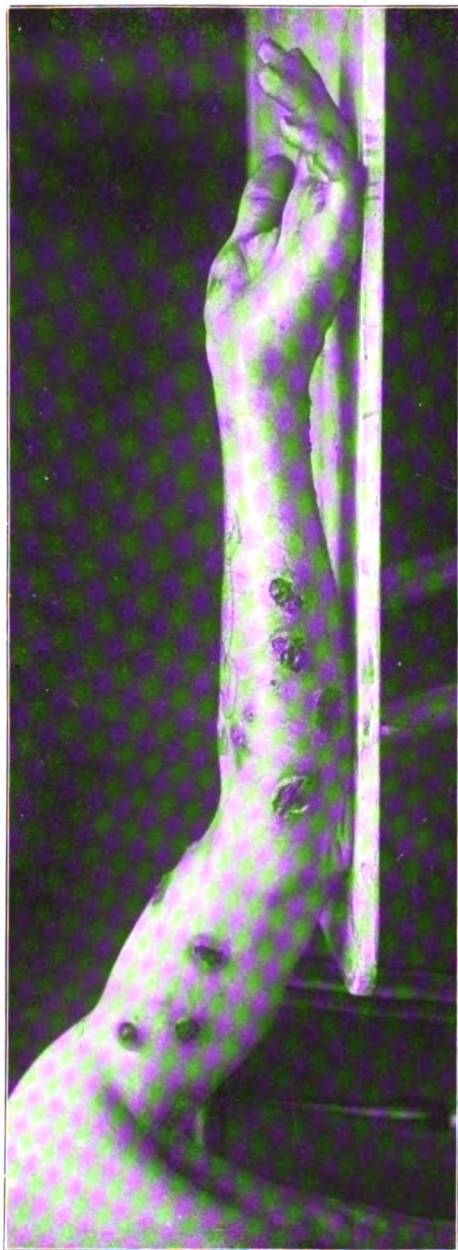
Außer den Pilzelementen findet man bei der histologischen Untersuchung nichts Auffallendes, namentlich scheinen echte Riesenzellen immer zu fehlen. Der Befund beim Menschen entspricht der Eiter- und Granulationsbildung, wie sie auch bei anderen Prozessen getroffen wird. Bei der Ratte haben wir an experimentell erzielten Tuberkeln des Peritoneums ausgesprochene Verkalkung beobachtet.

Ueber die Infektion des Menschen wäre noch anzuführen, daß sie gelegentlich durch den Biß infizierter Tiere erfolgen kann. In anderen Fällen verletzt sich der Patient bei der Arbeit und infiziert sich wahrscheinlich mit seinem eigenen Speichel, mit dem ja solche Wunden gewöhnlich in Berührung gebracht werden. Daß derselbe öfters solche Pilze enthält, dafür sprechen unsere Beobachtungen an Ratten und auch der von Dor beschriebene Fall.

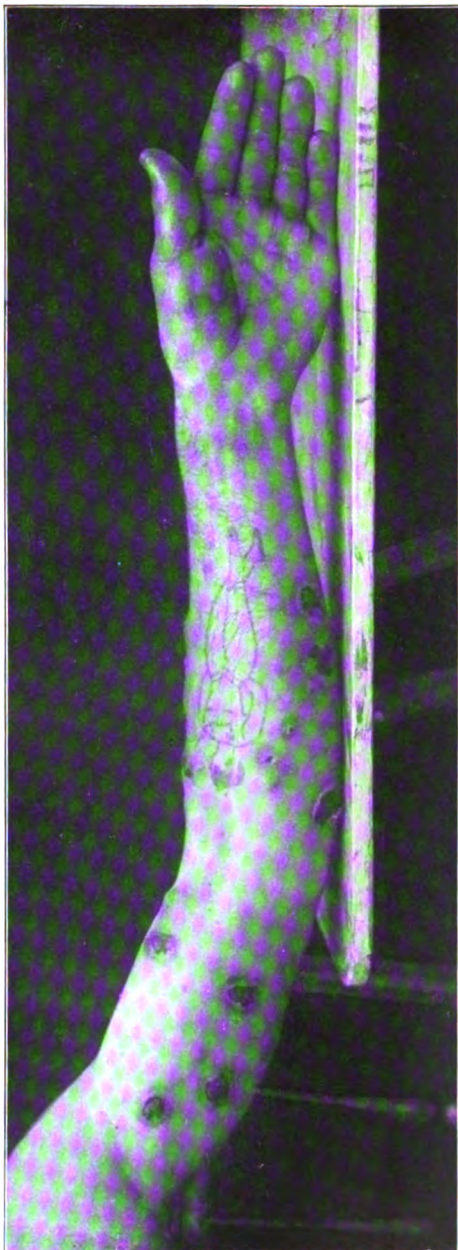
Vorstehende Studien wurden im bakteriologischen Institute des Staates São Paulo gemacht. Die Redaktion des allgemeinen Teiles wurde von Dr. Lutz übernommen, während Dr. Splendore in einem zweiten speziellen Teile die Einzelheiten der Versuche und Beobachtungen beschreiben wird. Die Literaturangaben folgen im Anschluß an den ersten Teil.

Literatur.

- 1) de Beurmann et Ramond, Abscess sous-cutanés d'origine mycosique. (Ann. de dermatol. et de syphil. 1903. Août-septembre.)
- 2) Matruchot et Ramond, Un type nouveau de champignon pathogène chez l'homme. (Compt. rend. soc. biol. T. LIX. 1905. 4. Nov.)
- 3) Dor, Louis, La sporotrichose (Abscess sous-cutanés multiples). (La Presse médicale. 1906. No. 30.)
- 4) de Beurmann et Gougerot, Les sporotrichoses hypodermiques. (Ann. de dermatol. et syphil. 1906. Oct.-Dec.; Bull. de la soc. française de dermatol. et de syphil. 1907.)
- 5) —, Sporotrichoses, présentation de cultures, pièces humaines et expérimentales. (No. 1.)

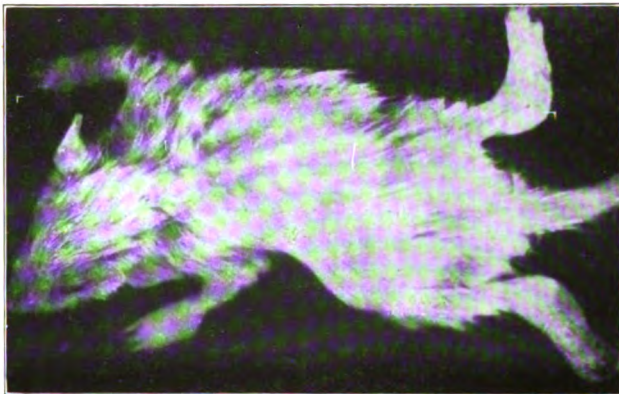


1

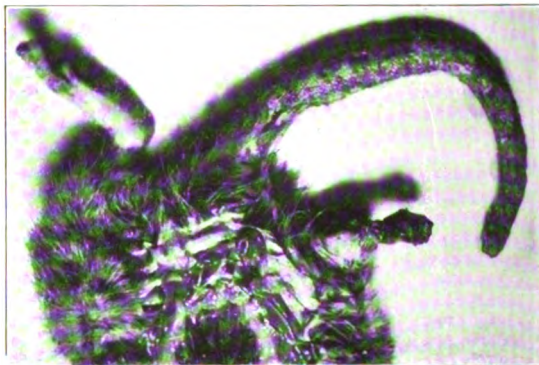


2

100



a

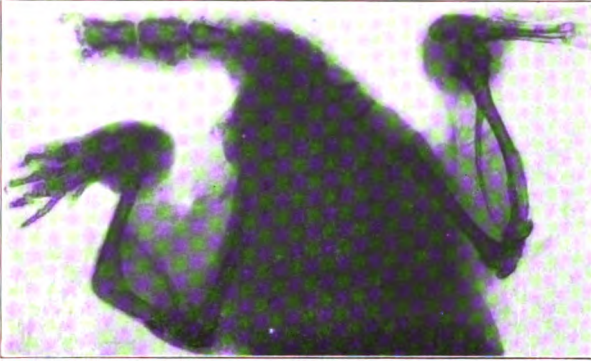


c

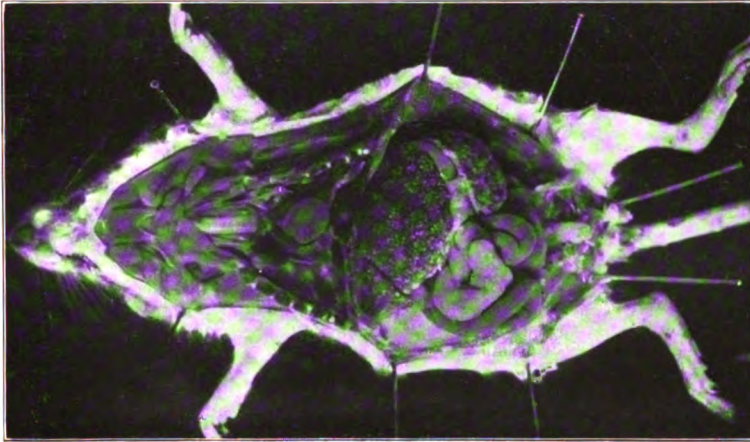


e

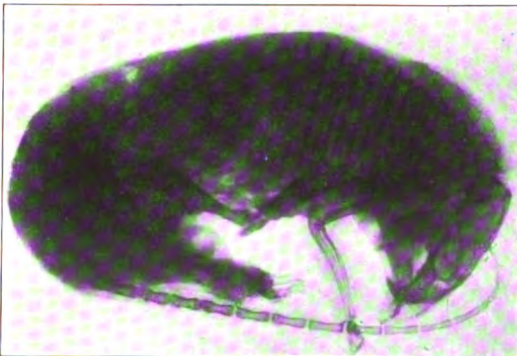
b



d



f

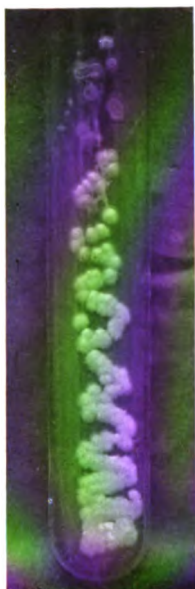


100

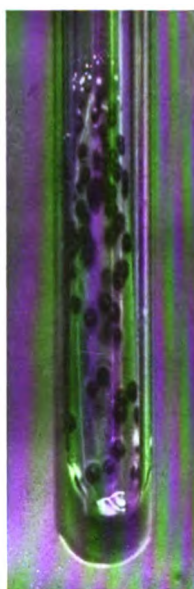
1000000
1000000
1000000



1



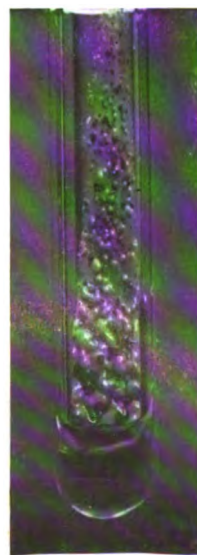
2



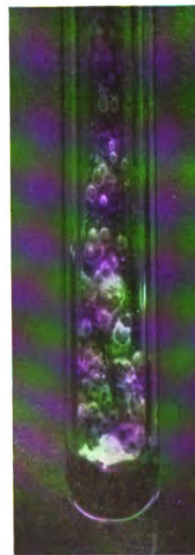
3



4



5



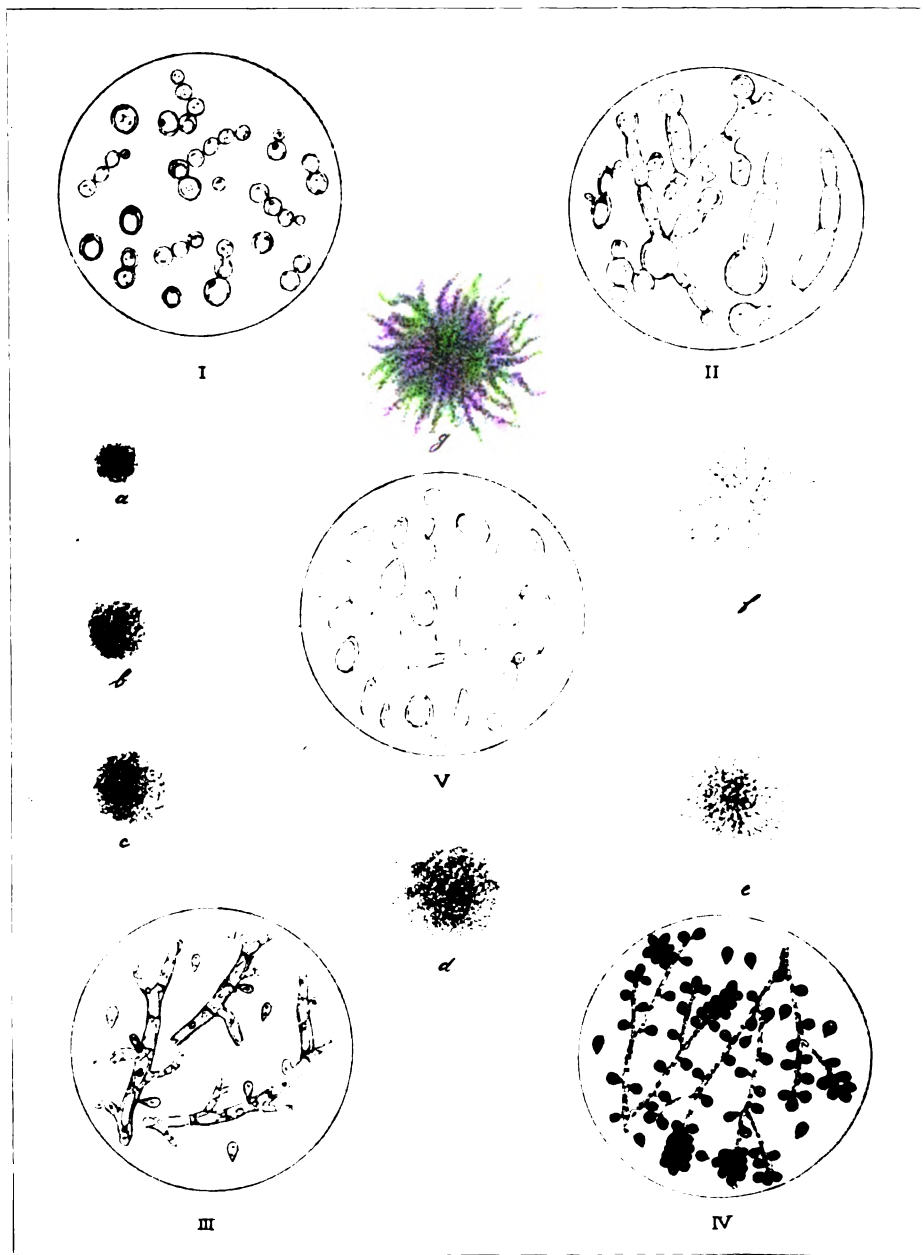
6



7



8



- 6) Danlos, Debove et Gougerot, Sporotrichoses, présentation de malades. (No. 1.)
- 7) de Beurmann et Gougerot, Note sur un nouveau cas de sporotrichose hypodermique. (No. 4.)
- 8) Gaucher et Monier-Vinard, Sporotrichose cutanée hypodermique, dermique et épidermique. (No. 4.)
- 9) de Beurmann et Gougerot, Complément à notre quatrième observation de sporotrichose sous-cutanée. (No. 4.)
- 10) — —, Un sixième cas de sporotrichose; sporotrichose hypodermique et dermique. (No. 4.)
- 11) Gougerot, Diagnostic de la syphilis et des sporotrichoses sous-cutanées et cutanées. (Ann. des maladies vénériennes. 1907. Mars.)
- 12) Schenk, Johns Hopkins Hospital Report. 1898.
- 13) Hektoen and Perkins, Journ. of exper. med. 1900. 5. Oct.
- 14) Journ. of the Boston Soc. of med. sc. Vol. CLXXIX. 1900.

Erklärung der Figuren.

Tafel I.

Mykotische Hauterkrankung beim Menschen, Fall V. Zwei Ansichten des linken Armes.

Tafel II.

a) Weiße Ratte, an einer Extremität durch Stich geimpft, zwei andere spontan (metastatisch) erkrankt. Stark verkleinert.

b) Radiographie einer grauen Ratte. Man sieht die Veränderungen der hinteren Extremitäten und des Schwanzes, wo durch die Krankheit eine Spontanamputation eingetreten ist. Etwas verkleinert.

c) Graue Ratte, an einem Beine und am Schwanz geimpft. Letzterer verdickt und ulceriert, bei ersterem ist infolge der Erkrankung Gangrän des distalen Teiles eingetreten. Etwas verkleinert.

d) Junge weiße Ratte, in Folge peritonealer Impfung mit Sporen nach 2 Wochen gestorben. Mykotische Pseudotuberkulose. Natürl. Größe.

e) Eingeweide einer intraperitoneal geimpften weißen Ratte mit mykotischer Pseudotuberkulose. Natürl. Größe.

f) Radiographie einer spontan infizierten grauen Ratte. Man sieht die Veränderungen an einer Fußwurzel. Stark verkleinert.

Tafel III.

1) Kultur auf Glycerinagar (leicht alkalisch) nach 5-tägigem Aufenthalt im Brutschrank bei 37°. Glatte, feuchte und glänzende Kolonien mit Hefeformen.

2) Kultur auf leicht saurem Malzagar nach 9 Tagen bei Lufttemperatur. Uebergangsformen. Man sieht die Umwandlung in strahlige, filamentöse Kolonien.

3—4) Kultur auf Mutterkornagar mit Zusatz von Glukose und ein Promille Weinsäure nach 6-tägigem Aufenthalt bei 28°. Sporenbildung. Zunehmende Schwärzung durch Reifung der Sporen.

5—6) Kultur auf Fleischwasserpeptonagar mit 2 Proz. Glukose (leicht alkalisch), nach 30 Tagen bei Lufttemperatur. Sporenbildung und Reifung in Kolonien von verschiedenem Charakter.

7) Kartoffelkultur (ohne Zusatz) nach einem Monat bei Lufttemperatur. Schwärzung infolge der Reifung der Sporen.

8) Kultur auf Infusum secalis cornuti mit 2 Proz. Glukose und Acidum tartaricum (1:1000). Nach 6 Tagen bei 28° C. An der Oberfläche fädige Kolonien, teils weiß, teils geschwärzt. Unreife und reife Sporen.

Sämtliche Kolonien sind etwas verkleinert.

Tafel IV.

Kulturen auf Mutterkorninfusgelatine, mit 1 Proz. Glukose und Acidum tartaricum (1:1000), in zunehmender Entwicklung (a—g). Uebergang der kompakten zu fädigen Kolonien, bei g Schwärzung durch das Auftreten reifer Sporen.

Fig. I—IV. Uebergang der Hefen- zu den Fadenformen mit Bildung und Reifung der Sporen.

Fig. V. Elemente aus den mykotischen Tuberkeln der Ratte. Vergr. von a—g ca. 15-fach, von I—V 1000-fach.

Nachdruck verboten.

Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre.

II. Teil. Versuch einer Infektionstheorie¹⁾.

[Aus dem k. k. hygienisch-bakteriologischen Institut der Jag. Universität in Krakau. Vorstand Prof. Bujwid.]

Von Dr. Philipp Eisenberg, Assistenten am Institut.

Jede Immunitätslehre, mag sie humoral oder cellulär oder beides zugleich, mag sie mehr mechanistisch (physiko-chemisch) oder vitalistisch gefärbt sein, verlangt als natürliche Grundlage und logisches Korrelat eine wohlbegründete Infektionstheorie, d. h. die Beantwortung der Frage, wie und warum eine Infektion zu stande kommt und welche Faktoren es sind, die die Art ihres Ablaufs sowie ihren Ausgang bestimmen. Es kann wohl nicht wunder nehmen, daß unsere junge Wissenschaft diese Probleme, die erst seit ca. 25 Jahren experimentell-analytischer Bearbeitung zugänglich sind, bisher noch nicht endgültig zu lösen vermocht hat und daß sie es noch immer vergeblich versucht, die ganze Mannigfaltigkeit der beobachteten Erscheinungen einheitlich zu erklären. Es ist ein stets von neuem zu beobachtender Vorgang, daß, wenn für einen besonderen Infektionsprozeß ein Moment von Bedeutung eruiert wird, man blindlings dasselbe auf die Gesamtheit der Infektionsprozesse zu übertragen sucht, ohne zu bedenken, daß derartige voreilige Verallgemeinerungen in der großen Mehrzahl der Fälle an der Vielfältigkeit der Erscheinungen scheitern müssen. Es sei hier nur an die mechanischen Zirkulationsstörungen beim Milzbrand, an die Rolle der Gifte bei der Diphtherie- und Tetanusinfektion sowie an die vermeintlich ausschlaggebende Rolle der Säftebakterizidie bei allen möglichen Infektionsprozessen erinnert.

Von den Infektionsproblemen ist es vor allem das erste Grundproblem, das uns hier beschäftigen soll, d. i. die Frage, wieso trotz der Abwehrmittel des Organismus pathogene Keime im Organismus Fuß fassen und ihre krankheitserregende Wirkung entfalten können. Selbstverständlich hat diese Frage eine größere Bedeutung, als nach ihrem Wortlaut ihr zuzukommen scheint, indem es von vornherein wahrscheinlich ist, daß diejenigen Eigenschaften der Mikroben, die ihnen die Ansiedelung und Vermehrung im zu infizierenden Organismus ermöglichen, nicht auf dieses Initialstadium der Infektion beschränkt sind, sondern auch im weiteren Verlauf zur Geltung kommen und, wie wir sehen werden, auf ihn mitbestimmend wirken. Die Schwierigkeit der experimentellen Bearbeitung dieses Problems, wie überhaupt der ganzen Infektionslehre liegt darin, daß es nur selten gelingt, die beim natürlichen Infektionsvorgang sich abspielenden Geschehnisse getreu im Experiment nachzuahmen, vielmehr sind wir meistens genötigt, durch ziemlich brutale, ich möchte sagen unnatürliche Eingriffe die Wirkung dieses oder jenes Faktors auf die Infektion festzustellen. Gerade das Anfangsstadium der Infektion bietet in dieser Hinsicht viel subtilere

1) Nach einem Referat erstattet in der patholog. Sektion des X. Kongresses polnischer Aerzte und Naturforscher zu Lemberg am 23. Juli 1907.

Verhältnisse, als sie der bei seinem Studium meist angewandte Peritonealversuch wiederzugeben vermag. Die schönen Untersuchungen von Kiskalt sind wohl, von diesem Standpunkt aus betrachtet, als vielversprechender Anfang einer neuen Experimentalkrichtung zu betrachten.

Zwei Theorien haben es bis jetzt unternommen, das Zustandekommen der Infektion zu erklären, die Endotoxinlehre von Pfeiffer sowie die Aggressintheorie von Bouchard-Kruse-Bail. Die erstere basiert zunächst auf den Beobachtungen von Pfeiffer über die peritoneale Cholerainfektion des Meerschweinchens, welche die Existenz stark ausgesprochener bakterizider Wirkungen der Körpersäfte sowie die Giftwirkung der bei der Bakteriolyse freiwerdenden Endotoxine dargetan haben. Sodann hat Radziewsky an der Hand ausgedehnter Experimente mit Cholera, Typhus, Milzbrand, Pyocyaneus, Pneumokokken und Streptokokken den Satz aufgestellt, daß bei jeder Infektion die Vermehrung der Keime mit einer ausgedehnten Zerstörung derselben Hand in Hand geht, daß im jeweiligen Infektionsstadium die Anzahl der festzustellenden Bakterien eine Resultante dieser beiden Faktoren ist, und daß sogar im Endstadium der Infektionen die Zerstörung meist über die Vermehrung Oberhand gewinnt und das Infektionsbild beherrscht. Im Sinne dieses „Gesetzes der Infektion“ sind die vitalen Funktionen der Mikroben für den Infektionsverlauf von geringer Bedeutung, indem ihre Vermehrung höchstens das Material zur Auflösung und Beschaffung des Endotoxins liefert — daher der paradoxe sterile Tod der Meerschweinchen in den Pfeifferschen Versuchen. Weiter haben Pfeiffer und Friedberger gezeigt, daß virulente Cholerastämme mehr Immunkörper binden als weniger virulente, daß also, nach Ehrlich gesprochen, Virulenz mit Reichtum an bakteriziden Rezeptoren einhergeht. Darauf baut nun Pfeiffer folgende Theorie der Virulenz auf: „Es verfügt in einem gegebenen Moment und gegebenen Bezirk der Tierkörper immer nur über eine bestimmte Quantität der Schutzstoffe. Treffen diese mit Bakterienindividuen zusammen, welche mit besonderer Begier die bakteriziden Substanzen verankern, so werden, vorausgesetzt, daß die Zahl der gleichzeitig einverleibten Mikroben groß genug ist, die sämtlichen an der Invasionsstelle vorhandenen Schutzstoffe von einem Bruchteil der Krankheitserreger mit Beschlag belegt werden, während der Rest der Bakterien ungestört sich vermehren kann. Diejenigen Bakterienindividuen, welche sich mit Ambozeptoren beladen haben, fallen zum Opfer, indem sie gleichsam mit ihren Leibern den vom Organismus bezogenen Schutzwall ausfüllen und gleichzeitig durch ihre bei diesem Prozeß zur Resorption gelangenden Endotoxine die Widerstandsfähigkeit der Körperzellen untergraben. Nach dieser Auffassung spielen die Bakterien im Tierkörper den bakteriziden Fermenten gegenüber eine relativ passive Rolle“ (p. 38).

Bezüglich dieser Theorie wäre nun folgendes zu bemerken: Zunächst erscheint es zweifelhaft, ob die vorzugsweise an den hinfälligen und kurzlebigen Choleravibrionen erhobenen Befunde in demselben Maße für alle anderen Infektionserreger gelten können (z. B. bei Tuberkelbacillen); nach Bail ist bei Typhusbakterien, bei Kokkeninfektionen und dergleichen der Zerfall durchaus nicht so ausgedehnt und bedeutungsvoll, als es nach den Radziewskyschen Befunden scheinen könnte. Sodann wäre noch zu erwägen, inwieweit bei Eiterkokken, Milzbrand u. a. Endotoxine (im Pfeifferschen Sinn) zur Erklärung des Infektionsmechanismus herangezogen werden sollen; das vorliegende Tatsachen-

material spricht jedenfalls nicht dafür, daß ihnen größere Bedeutung zukäme. Wie wäre dann z. B. der interessante, von Weil erhobene Befund zu erklären, daß Heubacillen im Meerschweinchenperitoneum nach Ausschaltung der Phagocytose sich ungestört vermehren und das Tier nach 8—10 Stunden töten, ohne daß eine Abtötung und Auflösung der Bacillen stattgefunden hätte (da Meerschweinchenserum ihnen gegenüber wirkungslos ist). Auch die Pfeiffersche Virulenztheorie bietet der Kritik manchen Angriffspunkt, und zwar natürlich nicht die Tatsachen, dafür bürgt die Autorität Pfeiffers, sondern ihre Deutung. Würde sich die Aufgabe der virulenten Keime darauf beschränken, die weniger virulenten durch ihren Untergang vor der Bakteriolyse zu schützen, so müßte jeder Infektionsprozeß eine Auslese der am wenigsten virulenten Individuen treffen und der summarische Effekt einer Passagenreihe die Herabsetzung der Virulenz sein, was doch in der überwiegenden Mehrzahl der Fälle durchaus nicht zutrifft, da hier Virulenzsteigerung fast die Regel zu sein pflegt. Sodann müßte im Sinne der Theorie mit steigender Virulenz des Stammes die Bakteriolyse und damit die pathogene Wirkung geringer werden, da doch eine immer geringere Anzahl von Individuen die bakteriziden Stoffe an sich reißen und der Bakteriolyse anheimfallen würde, also eine *Contradictio in adjecto*. Mit einem Wort, eine Theorie, die im Zerfall der Mikroben die Grundbedingung ihrer Pathogenität erblickt, müßte nicht in der Einschränkung dieses Zerfalls, sondern in seiner Begünstigung das Wesen der Virulenzhöhe suchen. Im allgemeinen glaube ich, daß eine Theorie, die den Mikroben im Infektionsprozeß eine rein passive Rolle zuteilt, der Kompliziertheit einer gegenseitigen Aufeinanderwirkung zweier Lebewesen, wie die Infektion sie darstellt, durchaus nicht gewachsen ist; nicht statisch, sondern, wie P. Th. Müller richtig hervorhebt, dynamisch muß jede Infektions- und Immunitätstheorie sein, soll sie sich nicht als zu eng erweisen.

Die Ursprünge der Aggressinlehre reichen 17 Jahre zurück. Auf Grund ausgedehnter Versuche über infektionsbegünstigende Stoffe in Bakterienkulturen (*substances favorisantes ou prédisposantes*) stellte Bouchard eine groß angelegte Infektionstheorie auf, die zum großen Teil noch jetzt aufrechterhalten werden kann und namentlich die in letzter Zeit viel diskutierte Frage nach der aggressiven Wirkung von Giften meines Erachtens treffend behandelt. Gleichzeitig hat Kruse theoretische Erwägungen über das Wesen der Virulenz angestellt und den Begriff von Lysinen (identisch mit Aggressinen) konstruiert. Ihm gebührt das Verdienst, zuerst das Problem des Zustandekommens der Infektion klar erfaßt zu haben, dagegen erscheint gegenwärtig die Vorstellung, die er sich über die Wirkungsweise der Lysine gemacht hat, unzureichend, zum Teil auch unzutreffend. Nicht ein gewisser chemischer Aufbau des Bakterienleibes oder die Ausbildung eines Schutzorgans etwa einer Kapsel noch die Bindung der Abwehrkräfte des Organismus machen nach ihm das Wesen der Virulenz aus, sondern die Ausscheidung der Lysine, die durch Neutralisation der Alexine die Infektion ermöglichen. Jahrelang blieben die Arbeiten von Bouchard und Kruse unverdienterweise in Vergessenheit, bis vor 4 Jahren Bail die Aggressintheorie wieder aufnahm und durch eine große Reihe bedeutsamer Untersuchungen das Infektionsproblem in den Mittelpunkt der Diskussion stellte. Als kühner, selbst ketzerischer Neuerer schreckt er nicht davor zurück, allgemein anerkannten Dogmen ihre Gültigkeit abzuspochen,

und wenn er auch das eine und andere Mal sich zu weit hinreißen läßt in seinen Folgerungen, so bleibt ihm doch unstreitbar das Verdienst, viele neue Tatsachen gefunden und auf neue Fragestellungen von großer Tragweite hingewiesen zu haben. Daß im Laufe der 4 Jahre vornehmlich unter der Einwirkung kritischer Auseinandersetzungen manches an der Theorie geändert oder eingeschränkt werden mußte, daß also die Theorie als sehr plastisch und accommodationsfähig sich erwiesen hat, möchte ich Bail eher als Verdienst, denn als Vorwurf anrechnen. Andererseits ist nicht zu verkennen, daß das von gegnerischer Seite beigebrachte Material manchen wesentlichen Punkt klargestellt und, wie im Folgenden noch ausführlicher gezeigt werden soll, die Aggressinlehre wesentlich erweitert hat. Um den Aggressinen eine Sonderstellung unter dem Vielerlei verschiedener „Stoffe“ der Immunitätslehre zu sichern, hatte Bail behauptet, sie würden nur im infizierten Organismus gebildet und seien ganz ungiftig; beide Behauptungen wurden durch die Untersuchungen von Wassermann und Citron, Dörr, Sauerbeck u. A. bedeutend eingeschränkt, ohne daß dadurch meines Erachtens der Grundgedanke der Aggressinlehre erschüttert worden wäre. Denselben Standpunkt vertreten Kruse sowie seine Schüler Pane und Lotti, die in ihren trefflichen Arbeiten sowohl nach der theoretischen wie nach der experimentellen Seite hin die Frage bedeutend gefördert haben.

Obzwar von allen diesen Forschern, besonders aber von Bail und seinen Mitarbeitern, eine staunenswerte Menge experimenteller Arbeit geleistet worden ist, haften noch der Aggressinlehre verschiedene Mängel an und harren noch manche Grundprobleme ihrer Lösung, die das nächste Ziel weiterer Arbeit werden muß. Zunächst ist ja die Theorie a posteriori konstruiert; nicht im Anfangsstadium der Infektion, das eigentlich im Mittelpunkt unseres Interesses steht, sondern in ihrem Endstadium, nicht als Ursache, sondern als Produkt der Infektion zeigt uns der Bailsche Grundversuch die Aggressine, der Beweis ihrer Mitwirkung beim Zustandekommen der Infektion steht bis jetzt noch aus, denn die ungeheuren Mengen von Aggressin, die Bail zum Nachweis der Infektionsbegünstigung verwendet, kommen wohl unter natürlichen Verhältnissen unmöglich in Betracht. Freilich verfügen wir zur Zeit noch nicht über ein so feines Reagens zum Nachweis von Aggressin, daß wir hoffen könnten, die minimalen Mengen, die im Initialstadium der Infektion gebildet werden können, sichtbar zu machen. Zweitens kennen wir bis jetzt die Aggressine nur von der teleologischen Seite her, nämlich ihre supponierte Rolle als infektiösbegünstigende Stoffe — über das Wie dieser Funktion läßt uns Bail und seine Schüler so ziemlich im unklaren: nicht durch Behinderung der Bakteriolyse, auch nicht durch Giftwirkung, sondern durch Fernhaltung der Phagocytose sollen sie den Infektionsprozeß beeinflussen. Wie diese Fernhaltung zustande kommt, darüber erfahren wir bis jetzt noch nichts, die von Weil und Nakayama beobachtete Phagocytosebehinderung beim Subtilis durch das Aggressin ist augenscheinlich eine Leukotoxinwirkung, die also nach Bail nichts mit dem Wesen des Aggressins zu tun hat und nur als abgesonderter Einzelfall dasteht. Endlich wird man es versuchen müssen nachzuweisen, daß auch bei den natürlichen Infektionsprozessen des Menschen den Aggressinen die ihnen von Bail vindizierte Rolle zukommt — die Geschichte der antitoxischen und bakteriziden Immunität, deren Wirkungsbereich durch die neueren Forschungen beträchtlich eingeschränkt wird, die Geschichte der Alexine lehrt uns bei der Ueber-

tragung von Laboratoriumsversuchen auf das schwierige Gebiet der „natürlichen“ Pathologie recht vorsichtig zu sein.

Mit dem Infektionsproblem habe ich auf Grund eigener und fremder Erfahrungen vor 4 Jahren mich beschäftigt, indem ich die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus als wichtigen Faktor im Infektionsmechanismus hinzustellen versuchte. Kürzlich habe ich die Frage noch einmal auf Grund neuerer Errungenschaften eingehend untersucht und, wie ich glaube, nach manchen Richtungen hin erweitert. Während nun dort die Veränderungen, die während des Infektionsprozesses an den Bakterien vor sich gehen, a posteriori festgestellt und versucht wurde, aus den Befunden am Ausgang der Infektion Rückschlüsse auf die Geschehnisse im Initialstadium zu ziehen, soll hier zum Teil auf Grund desselben Tatsachenmaterials, das hier als bekannt vorausgesetzt wird, der Infektionsmechanismus in umgekehrter Richtung, d. h. vom Anfang an konstruiert werden. Was dabei Ausdruck der vorliegenden Facta, was Analogieschluß und was Hypothese ist, wird dem in der Frage bewanderten Leser nicht schwer fallen auseinanderzuhalten, auch will ich nach Möglichkeit trachten, diese Unterscheidung an geeigneten Stellen selber kenntlich zu machen.

Die Bakterienzelle setzt sich bekanntlich aus zwei mehr oder minder differenzierten, ineinander übergehenden Schichten zusammen, aus dem mit Chromatin vermengten Endoplasma und aus dem derberen, kondensierteren, stärker lichtbrechenden Ektoplasma. Die gewöhnlichen Bakterienfärbungen lassen meistens das Ektoplasma gar nicht zum Vorschein kommen und es bedarf erst besonderer Fixier- und Färbemethoden, um es zur Anschauung zu bringen. Die Geißelfärbungen lassen meistens den Bakterienleib $1\frac{1}{2}$ —3-mal größer erscheinen als die gewöhnlich gebräuchlichen; die Methoden von Nakanishi, Feinberg, Boni lassen die beiden Anteile der Zelle bei den meisten bekannten Bakterienarten besonders hervortreten. Beim Milzbrandbacillus, der im Tierkörper eine mächtige Kapsel aufweist, haben Kern sowie Pianese auch in Kulturen solche nachgewiesen, auch Babes hat sie an vielen Bakterienarten eingehend studiert. Auch auf gewöhnlich gefärbten Präparaten aus Bakterienkulturen sieht man, daß die einzelnen Individuen, so dicht sie auch stehen mögen, fast nie einander direkt berühren, sondern durch ungefärbte gleichmäßige Zwischenräume von einander getrennt sind. Das Ektoplasma bildet einen nicht zu vernachlässigenden Teil der Bakterienzelle und erreicht bei polytrichen Arten (*Proteus*) nach Zettnow, der den Nachweis seiner Existenz zuerst geführt hat, die Hälfte der ganzen Zellmasse, da der Geißelapparat als differenziertes Ektoplasmaorgan zu betrachten ist. Die Beobachtung, daß bei Staphylokokken das Ektoplasma mit rotstichigem Methyleneblau metachromatisch sich färbt (Babes) bzw. nach Unnas Methode differentiell gefärbt werden kann, die differenzierte Färbung nach Feinberg bei verschiedenen Bakterien beweisen, daß die chemische oder physikalisch-chemische Beschaffenheit des Ektoplasmas von jener des Endoplasma zum Teil verschieden sein muß. Unter gewissen Umständen erleidet das Ektoplasma verschiedene Umwandlungen; dahin gehört z. B. eine schleimige Verquellung, die in älteren Kulturen von Pest- sowie von Kapselbakterien beobachtet wird. Damit nicht zu verwechseln ist die schon bei gewöhnlicher Färbung hervortretende Kapselbildung; außer im Tierkörper (davon weiter ausführlicher) wird sie nur selten in Kulturen beobachtet, höchstens in den ersten Generationen nach Herauszüchtung aus dem Tierkörper oder auf

Serumnährböden, die die Verhältnisse des tierischen Organismus teilweise wiedergeben. Man muß annehmen, daß die Bedingungen des Milieus, vor allem die Art der sich darbietenden Nährstoffe für die Kapselbildung von bestimmender Bedeutung sind; der Froschlaichpilz *Leuconostoc mesenteroides* Cienk. bildet eine mächtige schleimartige Kapsel nur auf Nährböden, die Rohr- und Traubenzucker enthalten, nicht aber auf solchen mit Milchzucker, Maltose oder Dextrin, obzwar auch diese Zuckerarten von ihm vergoren werden¹⁾; in der Kapsel läßt sich ein Assimilationsprodukt des Zuckers, Dextran, nachweisen.

Ähnlich verhält es sich mit dem *Leuconostoc Lagerheimii* Ludv., *Leuconostoc hominis* Hlava. Analoge Erscheinungen sind auch bei anderen Pflanzenzellen beobachtet worden als Membranverdickung infolge Kohlehydratzufuhr, wobei das Kohlehydrat wohl in Cellulose umgewandelt wird. Auch bei den den Bakterien nahestehenden Schimmelpilzen konnte Raciborski bei Traubenzuckerernährung eine Membranverdickung feststellen, die auf Einlagerung eines mit Jod blau sich färbenden Stoffes zurückzuführen war.

Auf die biologische Bedeutung derartiger kapselartiger Differenzierung des Ektoplasmas wirft ein interessantes Licht die Beobachtung von Liesenberg und Zopf, wonach die kapseltragende Form des *Leuconostoc mesenteroides* der Hitzeeinwirkung gegenüber sich bedeutend widerstandsfähiger zeigt als die kapsellose und zwar verträgt sie eine viertelstündige Erhitzung auf 85° C. Wenn wir bedenken, daß das Ektoplasma der Bakterien ähnlich wie das Ektoderm der höheren Tiere oder die Rindenschicht höherer Pflanzen seiner anatomischen Lage nach zum Schutzorgan des Bakteriums berufen erscheint, so wird es gut verständlich, daß eine Hypertrophie dieses Organs eine erhöhte Resistenz physikalischen, physikalisch-chemischen und chemischen Schädlichkeiten gegenüber zur Folge haben muß. Umgekehrt läßt sich bei der überaus großen Plastizität und Anpassungsfähigkeit des Bakterienprotoplasmas voraussetzen, daß, wenn solche Schädlichkeiten nicht allzu plötzlich und gewalttätig auf die Bakterienzelle einwirken und ihr zu einer Anpassung Zeit lassen, eine derartige Hypertrophie des ektoplasmatischen Schutzorgans eintreten kann, die es dem Bakterium ermöglicht, die Schädlichkeit zu überwinden. Auch wird das Ektoplasma wahrscheinlich als osmotischer Regulator der Bakterienzelle fungieren, der bei osmotischen Druckänderungen in der Umgebung die Intaktheit der Zelle und ihres Baues zu wahren berufen ist. Einlagerungen von fett- oder wachsartigen Substanzen im Ektoplasma werden natürlich in dieser Richtung von großer Bedeutung sein. Für diese Auffassung des Ektoplasmas als Schutzorgan der Bakterienzelle sprechen die interessanten Ergebnisse, die Danyss bei der Anpassung von Milzbrandbacillen an die antiseptische Wirkung von Arsenik erhalten hat; die stufenweise an immer konzentriertere Lösungen gewöhnten Bakterien zeigen nämlich eine dicke Schleimkapsel; durch ihre allmähliche Auflösung in der Kulturbouillon gewinnt diese die Eigenschaft, gewöhnliche unangepaßte Bacillen vor der Arsenikwirkung zu schützen. Gewöhnliche Milzbrandbouillon (filtriert) zeigt diese Eigenschaft in bedeutend geringerem Grade, woraus erhellt, daß schon normalerweise diese Schutzschicht, wenn auch schwächer ent-

1) Zwei neuerdings von Zettnow eingehend studierte Rassen bilden nur auf Rohrzucker Kapseln — wohl das prägnanteste Beispiel biochemischer Spezifität (Anmerkung während der Korrektur).

wickelt, bereits existiert und in das Kulturmedium abgeschieden wird, daß sie aber durch Anpassung hypertrophieren kann und dabei in größerer Menge zur Ausscheidung gelangt.

Es läßt sich gut begreifen, daß auch im tierischen Organismus die Bakterien darauf angewiesen sein werden, ihr Ektoplasma als Schutzvorrichtung zu verwenden. Beide Bedingungen dafür sind gegeben: die schädliche Einwirkung seitens der Körpersäfte und Zellen sowohl physikalisch-chemischer als auch chemischer Natur — sodann eine im Vergleich zur saprophytischen Lebensweise in der Außenwelt stark geänderte Ernährungsweise. Soll ein Bakterium im infizierten Organismus sich erhalten und vermehren — und das liegt ja im Begriff der Pathogenität resp. Virulenz — so muß es auf diese Schädlichkeiten durch Veränderungen seines Ektoplasmas reagieren können; je größer diese Reaktionsfähigkeit, desto leichter wird es die Infektion hervorrufen, desto virulenter ist es. Tatsächlich kennen wir ja eine Reihe Mikroorganismen (siehe vorhergehende Arbeit), die im Tierkörper sich mit einer Kapsel umgeben; es wären zu nennen: Milzbrandbacillen, Strepto- und Pneumokokken, *Leuconostoc hominis*, *Streptococcus involutus* Kurth., *Str. vulvitidis vaccarum*, *Str. mastitidis vaccarum*, *Str. equi*, *M. ascoformans* (*Botryomyces*), *Diplococcus mucosus*, *Streptococcus mucosus*, *Micr. tetragenus*, Pestbakterien, Hühnercholera (Lehmann-Neumann), Kapselbakterien, pathogene Hefen, *Aktinomykose* (?). Eine Reihe schon früher besprochener Untersuchungen, die sich mit der Milzbrand-, Streptokokken- und Pestinfektion befaßt, zeigt, daß dieser Kapselbildung eine hervorragende Rolle im Mechanismus dieser Infektionen zukommt, indem sie dem Bakterium Resistenz gegen Bakterizidie sowie Phagocytose, den Hauptschutzmitteln des Organismus, verleiht. Je virulenter ein Milzbrandstamm, desto eher vermag er im Tierkörper sich einzukapseln: wird ein Meerschweinchen intraperitoneal mit Milzbrandbacillen infiziert, so geht selbst in diesem höchstempfindlichen Organismus ein großer Teil der eingeführten Keime durch Phagocytose zu Grunde, nur einige wenige entgehen diesem Schicksal, indem sie sich mit einer Kapsel umgeben und können von nun an ungestört sich vermehren. Auch hier scheint also unter den Individuen einer Kultur eine Auswahl getroffen zu werden, indem nur jene am Leben bleiben, die recht schnell ihr Schutzorgan zu bilden vermögen. Daß die Resistenz der gekapselten „tierischen“ Bacillen mit der Kapselbildung in ursächlichem Zusammenhang steht, beweist die Feststellung von Preisz, daß eine Lösung der Kapselsubstanz Kulturbacillen vor der bakteriziden Wirkung von Kaninchen- und Pferdeserum schützt. Dementsprechend zeigen sich solche gekapselte Bakterien virulenter als „nackte“ Kulturbacillen, d. h. sie töten die Versuchstiere in kürzerer Zeit und in geringerer Menge als jene; das Anfangsstadium der Infektion bis zur Heranbildung der Kapselgeneration fällt bei ihnen fort. In welcher Weise die Kapsel die Phagocytose sowie die Bakterizidie verhindert, ob auf physikalischem, physikalisch-chemischem oder rein chemischem Wege, das entzieht sich vorläufig unserer Erkenntnis. Bekanntlich gelingt es auch in vitro durch Züchtung in Serum eine Kapselbildung bei den oben aufgezählten Bakterienarten zu erzielen (bei den Kapselbakterien auch in Milch, beim *Saccharomyces* Curtis auch in saueren Zuckernährböden); da auch inaktiviertes oder bakterizid unwirksames Serum sich dazu eignet, muß man wohl die grobteleologische Auffassung fallen lassen, als ob dieser Vorgang eine direkte Abwehrscheinung seitens

der Bakterien vorstellen würde. Entweder gibt das Serum den Reiz zur Kapselbildung ab oder aber liefert es einen Stoff, der direkt- oder indirekterweise zum Aufbau der Kapsel nötig ist, etwa wie der Zucker zur Bildung der *Leuconostoc*-Kapseln. Bei Züchtung der Milzbrandbacillen in Serum werden nach einiger Zeit die schon gebildeten Kapseln langsam aufgelöst, ohne daß sich weiterhin neue bilden — es scheint also das hypothetische Etwas im Serum aufgebraucht oder umgewandelt zu werden, während es freilich im Organismus wahrscheinlich durch Regeneration ersetzt wird. Ich möchte die Kapselbildung am ehesten als Beantwortung eines bestimmten Nahrungsreizes betrachten; es scheint ja der tierische Organismus, sobald bakterienfeindliche Momente nicht in Betracht kommen, ein optimales Nährmedium für pathogene Keime abzugeben. Es wäre dann die Kapselbildung ebenso wie die Sporenbildung eine unter optimalen Lebensbedingungen eintretende Umwandlung der Zelle, die ihr eine gewisse Resistenz gegenüber verschiedenen Schädlichkeiten gewährleistet. Daß auch verschiedene Nahrungsreize Kapselbildung zur Folge haben können, beweist der *Saccharomyces* Curtis, bei dem sie sowohl im Tierkörper als auch in sauren Zuckernährböden zu beobachten ist. Die Metachromasie der Kapsel spricht dafür, daß ihre Konstitution mit der des Bakterienleibes nicht identisch ist; sie zeigt eine bedeutende Resistenz gegenüber Fäulnis oder der auflösenden Wirkung der Körpersäfte. So zeigt Berndt, daß beim Zerfall der Milzbrandstäbchen in faulem Kadaverblut das Endoplasma innerhalb der Kapsel zuerst zerfällt und seine Färbbarkeit einbüßt, während die Kapsel am längsten dem Zerfall widersteht; dasselbe wurde von Radziewsky an gekapselten Pneumokokken beobachtet. Daß die Kapsel jedoch nichts prinzipiell Neues am Bakterium bedeutet, beweist die Tatsache, daß der Extrakt aus normalen Agarbacillen ebenso wie der ausgekapselten „tierischen“ Bacillen infektionsbegünstigend (aggressiv) wirkt, nur in geringerem Grade (Bail). Es ist eben der oben ausgeführten Anschauung gemäß die Kapsel nichts anderes als das hypertrophierte Ektoplasma. Im tierischen Organismus löst sich die Kapsel allmählich auf (in dem Maße, wie sie fortwährend neu gebildet wird), und diese aufgelöste Kapselsubstanz verleiht der Exsudatflüssigkeit infektionsbegünstigende Eigenschaften, indem sie einerseits die Bakterizidie hemmt, andererseits die Phagocytose beeinträchtigt (darüber siehe weiter unten). Wird die Oedemflüssigkeit (das Aggressin) mit Kulturbacillen eingespritzt, so schützt sie die Bacillen vor den Schutzstoffen des Organismus und beschleunigt die Kapselbildung und damit auch den Infektionsverlauf.

Nun sind aber bekanntlich nicht alle Bakterienarten zur Kapselbildung befähigt, und es erhebt sich nun die Frage, wieso denn diese anderen dazu gelangen, ihre pathogenen Funktionen im zu infizierenden Organismus trotz seiner Abwehrmittel zu entfalten. Wohl sind auch an ihnen morphologische Veränderungen im infizierten Tier festzustellen, doch erreichen sie bei weitem nicht jene Deutlichkeit und Ausdehnung, wie bei den früher erwähnten. Am *B. coli* hat Radziewsky bei tödlicher Infektion schon nach einigen Stunden ein bedeutendes Anschwellen festgestellt und erblickt darin „eins der charakteristischen Merkmale des Infektionsprozesses“. An Staphylokokken hat Kiskalt ein Größerwerden im Verlauf der Infektion beobachtet, ähnlich wie auf künstlichen Nährböden mit hohem Salzzusatz bei ungeeigneter Reaktion oder nahe an der oberen Wachstumsgrenze (Courmont, R. des

Longchamps, Matzuschita) — beides wahrscheinlich auf Hypertrophie des Ektoplasmas zurückzuführen. Auch Typhusbakterien werden im Meerschweinchenperitoneum dicker und färben sich intensiver als Kulturbakterien (Bail und Rubritius) und ich konnte durch Anwendung der Giemsa-Färbung an solchen Bakterien eine deutliche Differenzierung eines blauviolett gefärbten Ektoplasmas und eines rosafarbenen ziemlich breiten Ektoplasmasaumes erzielen. Weit wichtiger sind jedoch die funktionellen Veränderungen, die „tierische“ Bakterien im Verlauf der Infektion aufweisen. Nach Bail und Rubritius sind Typhusbakterien, nach Rubritius Rhinosclerom- und Friedländer-Bakterien, die einige Stunden im Tierkörper verweilt haben, serumfest, d. h. resistent gegen die Bakterizidie, und bei längerer Dauer des Infektionsprozesses züchtet man meistens aus dem infizierten Organismus angepaßte Stämme heraus, die in wechselndem Grade Resistenz gegen Phagocytose und Bakterizidie aufweisen, wie in der früheren Arbeit des näheren an fast allen bekannten Infektionserregern ausgeführt wurde. Zur Erklärung dieser höchst wichtigen Tatsache, deren große Bedeutung sowohl für das Zustandekommen wie für Verlauf und Ausgang der Infektion an oben erwähnter Stelle ausführlich erörtert wurde, muß man, glaube ich, wieder auf das Ektoplasma und seine Veränderungen während des Infektionsprozesses zurückgreifen.

Zunächst erscheint es wahrscheinlich, daß im Ektoplasma der Angriffspunkt aller bisher bekannt gewordener antibakterieller Serumfunktionen zu suchen ist, also der Agglutination (und Koagulation), der Bakteriolyse und der Opsonisation resp. Bakteriotropie. Bezüglich der Agglutination wird ja dieser Standpunkt fast allgemein angenommen und die Koagulation ist ja nichts anderes als Agglutination gewisser freigewordener Anteile der agglutinablen Substanz. Bakteriolyse scheint nach neueren Untersuchungen eine osmotische Zerstörung der Bakterienzelle auf Grund einer Umwandlung des Ektoplasmas zu sein, und auch für die Opsonisation erscheint es naheliegend, eine chemische oder physikalisch-chemische Modifikation des Ektoplasmas als Grund anzunehmen. Demzufolge ist auch im Ektoplasma gemäß der jetzt allgemein akzeptierten Annahme von Ehrlich auch der Sitz der Agglutinin-, Koagulin-, Bakteriolysin- und Opsoninantigene. Ob alle diese Antigene auf einen Körper — eine durch ihre Einfachheit allerdings verlockende Hypothese — zurückzuführen sind, läßt sich vorläufig nicht entscheiden, die vorliegenden Tatsachen, die dagegen zu sprechen scheinen, sind doch wohl nicht beweisend. Bei allen Versuchen, in denen durch chemische oder thermische Einwirkungen Bakterien derart beeinflußt werden, daß sie die lysogene Funktion einbüßen, dafür aber die agglutinogene bewahren, muß man die Möglichkeit im Auge behalten, daß durch diese Einwirkungen „Zustandsänderungen“ (Obermeier und Pick) am Antigen entstehen, die dann auch den Wirkungsbereich des Antikörpers beeinflussen; es kann eben der anormale Antikörper noch agglutinierend, nicht mehr aber lytisch wirken, wozu es angesichts des komplizierten physikalisch-chemischen Charakters dieser Vorgänge nicht einmal großer Aenderungen bedarf (Brieger, Schütze, Defalle, Neisser und Shiga; das gilt übrigens auch für die Verfütterung von Bakterien: Fraenkel und Otto). Sollte diese Vermutung in Zukunft sich bewahrheiten, so müßte man wohl auch mit großer Wahrscheinlichkeit die Identität aller antibakterieller Serumfunktionen oder -Stoffe annehmen, wozu schon Bail den Anfang mit der Identifikation von Bakteriolyse

und Präzipitation gemacht hat. Es wären dann Agglutination, Koagulation, Bakteriolyse und Opsonisation nur verschiedene Erscheinungsformen desselben physiko-chemischen und chemischen Vorganges — des Zusammentreffens von Ektoplasmasubstanz mit ihrem Antikörper und ihrer Aufeinanderwirkung — unter verschiedenen physikalisch-chemischen Bedingungen, Erscheinungsformen, von denen die Opsonisation den wichtigsten, Bakteriolyse einen beschränkten und die beiden anderen keinen Wert für die biologische Erklärung der Immunitätsvorgänge haben dürfte.

Doch nach dieser hypothetischen Exkursion nun zurück zu unserem infizierenden Bakterium! In Analogie zu dem, was oben betreffs der der Kapselbildung fähigen Arten ausgeführt wurde, werden wir auch hier eine reaktive Hypertrophie des Ektoplasmas sowie vermehrte Abscheidung seiner Teilchen in die Umgebung annehmen. Freilich erreicht die Hypertrophie hier nicht die Ausdehnung wie dort, wo das Bakterium sein Volumen aufs 3—4-fache vermehrt, sie kann aber auch in geringerem Grade schon genügen, dem Bakterium eine gewisse Resistenz zu verschaffen. Auf welche Weise das hypertrophische Ektoplasma Bakteriolyse und Phagocytose hemmt, läßt sich jetzt noch ebensowenig sagen wie bezüglich der Kapsel — Tatsache ist, daß an „tierischen“ Bakterien diese Resistenz fast ausnahmslos beobachtet wird. Von Bedeutung für die zukünftige Beantwortung dieser Frage dürfte die Beobachtung von Rosenow sein, derzufolge ein Extrakt aus virulenten Pneumokokken (besonders aus Blutbouillonkulturen) avirulente Stämme vor Phagocytose schützt und zwar mit besserem Erfolg, als ein Auszug aus avirulenten Kokken. Die Wirkung des Extraktes scheint auf seiner antiopsonischen Funktion zu beruhen; im Tierkörper wirkt es infektionsbegünstigend (aggressiv). Die extrahierten virulenten Kokken werden der Phagocytose ebenso zugänglich, wie es avirulente normalerweise sind. Das Interessanteste daran aber, sofern es bestätigt wird, wäre die Beobachtung, daß avirulente Pneumokokken nach 24-stündigem Aufenthalt im Extrakt aus den virulenten selber Tiervirulenz sowie Phagocytoseresistenz erlangen (auch wenn sie nachher gewaschen werden). Rosenow läßt vorderhand die Frage nach der Identität dieser Substanz, die er als Virulenzträgerin „Virulin“ nennt, mit der Kapsel des *Pneumococcus* in suspenso, indem er bei virulenten sowie avirulenten Stämmen keine Unterschiede an den Kapseln feststellen konnte. Nun scheint Rosenow auf Blutnährböden zu züchten, auf denen alle Pneumokokken Kapseln aufweisen, es kann aber neben dem Volumen auch die Konstitution sowie die Regenerationsfähigkeit der Kapsel für ihre resistenzsteigernde Funktion von Belang sein. Was den Mechanismus der Hypertrophie des Ektoplasmas betrifft, so dürfte es zur Zeit schwer fallen, denselben zu erklären — ist es die Beantwortung eines osmotischen oder Nahrungsreizes oder aber ist es im Sinne der Ehrlich'schen Theorie Rezeptoreneubildung als Reaktion auf die Besetzung der Ektoplasmarezeptoren durch Serumstoffe oder vielleicht im Sinne der neuesten Befunde von Wassermann und Citron beides zugleich, d. h. Bindung von Serumnährstoffen an das Ektoplasma und reaktive Hyperregeneration. Eine gewisse Schwierigkeit bieten der Erklärung die Absorptionsverhältnisse virulenter Stämme; man sollte nämlich vom hypertrophierten Ektoplasma eine größere Absorption der Antikörper (Agglutinine, Lysine, Opsonine) erwarten, als vom normalen! Nun haben wohl Pfeiffer und Friedberger bei virulenten Cholerastämmen größere Bindungskraft für Choleraambozeptoren gefunden als bei avirulenten, doch konnte diese

Tatsache von Meinicke und Jaffé an Choleravibrionen, von Wassermann sowie von Pettersson an Typhusbakterien nicht bestätigt werden. Bezüglich der Agglutinine wurde sogar meistens bei agglutininresistenten Typhusstämmen gegenüber der Norm herabgesetzte Bindungsfähigkeit gefunden (P. Th. Müller, Cole, Eisenberg), ebenso bezüglich der Oponine bei virulenten Pneumokokkenstämmen (Rosenow). Es wäre vielleicht in Erwägung zu ziehen, inwieweit aus der Bindungsfähigkeit in vitro (denn die antigene Funktion in vivo ist zu kompliziert, um bindende Schlüsse in dieser Frage zu erlauben) auf den Rezeptorenreichtum des Bakteriums geschlossen werden darf, vor allem ob bei Hypertrophie des Ektoplasmas die Serumantikörper nicht auf physikalischem oder physikalisch-chemischem Wege am Herantritt an die Bakterienzelle gehindert werden.

Damit nebenher geht ein anderer für den Infektionsmechanismus nicht bedeutungsloser Prozeß — die Abgabe von Ektoplasmateilchen an die Umgebung. Es scheint, daß dieser Prozeß in geringem Umfang auch schon außerhalb des Tierkörpers vor sich geht, diese Meinung vertritt auch Bail, und die Beobachtung von Levy und Fernet, daß Filtrate 24-stündiger Bouillonkulturen von Typhus und Paratyphus infektionsbegünstigend (aggressiv) und antiphagocytär wirken, scheint dafür zu sprechen. Die Leichtigkeit, mit der Zellbestandteile bei bloßem Schütteln von den Bakterien abgegeben werden (Meyer und Bergell, Wassermann und Citron, Brieger und Meyer), kann als Hinweis darauf betrachtet werden, daß sie in der Außenschicht der Zelle ihren Sitz haben. Im Tierkörper wird nun die Abgabe dieser sogenannten freien Rezeptoren beschleunigt und vermehrt; sind ja auch die in vitro erhaltenen Serumauszüge aus Bakterien aggressiv wirksamer als solche, die mit Wasser oder physiologischer Kochsalzlösung erhalten werden (Wassermann und Citron). Durch Bindung bakterizider Ambozeptoren sowie der Alexine (Axamit) und der mit ihnen nach neuesten Forschungen identischen Oponine (sofern diese in den Säften frei vorhanden sind) wirken nun diese freigewordenen Ektoplasmabestandteile infektionsbegünstigend (aggressiv), wenn auch diese Wirkung nicht das ganze Wesen des „Aggressins“ erschöpft¹⁾. Der von Bail sowie von Doerr geführte Nachweis präzipitabler Substanz in aggressiven Exsudaten beweist eben das Freiwerden von Ektoplasmarezeptoren im Tierkörper. Wenn Bail neuerdings behauptet, ein nicht präzipitables, aber aggressives Choleraexsudat erhalten zu haben, so wäre noch zu fragen, ob nicht etwa im Exsudat ein Ueberschuß an präzipitabler Substanz vorhanden war, der unter Umständen bekanntlich den Eintritt der Präzipitation verhindern kann. Wie man sich diese Abgabe von Ektoplasmateilchen vorstellen soll, als vitale Funktion einer Reizbeantwortung, als physikalisch-chemische Auflösung seitens der Körpersäfte oder endlich als Zerfallerscheinung, läßt sich vorderhand nicht entscheiden; ich neige mit Bail der Ansicht zu, daß sie ohne Störung der Lebensfunktionen der Zelle vor sich gehen kann, daß man also füglich von einer Art von „Sekretion“ sprechen könnte. Natürlich können auch bei manchen speziell osmotisch sehr empfindlichen, bakteriolytisch leicht beeinflussbaren Arten (Cholera, *Pyocyaneus*, weniger Typhus) durch bakteriolytischen

1) Neuerdings behauptet Weil, das Subtilis-Aggressin sei unfähig, Komplement zu binden und enthalte selber noch welches. Es wäre hier daran zu denken, ob nicht etwa das Aggressin Subtilis-Hämolyisin enthält, welches die Wirkung eines Komplementes vortäuscht.

Zerfall der Zelle oder sonstig bedingten Tod Ektoplasmabestandteile frei werden und ihre infektionsbegünstigende Wirkung in oben erwähntem Sinne als freie Rezeptoren entfalten.

Diese Frage steht in engem Zusammenhange mit der Endotoxinlehre und der Rolle, die man ihr im Infektionsprozeß zuteilt. Schon bei Besprechung der Pfeifferschen Virulenztheorie habe ich meine Bedenken gegenüber der Auffassung von Pfeiffer und Radziewsky geltend gemacht. Wie schon erwähnt, ist es schwer, den Begriff der Infektion auf Lebewesen zurückzuführen, die nicht durch ihre Lebensfunktionen, sondern erst durch ihren Tod dem Wirt gefährlich werden. Ich glaube vielmehr, daß die Endotoxine durch lebende Bakterien ausgeschieden werden unter dem Einfluß des Organismus (als Reizbeantwortung) und daß die Höhe dieser Ausscheidung zum Teil die Virulenz des Bakteriums mitbestimmt. Es soll dabei nicht geleugnet werden, daß bei manchen besonders empfindlichen Arten (Cholera, *Pyocyaneus*, Typhus, *Proteus*) auch durch Zerfall resp. Auflösung der Zelle Endotoxine frei werden und zur Wirkung gelangen können. Mit dieser Auffassung nähere ich mich dem Standpunkte Buchners, der ebenfalls annahm, seine „pyogenen Substanzen“, deren Ursprung er in die Bakterienzelle verlegte, aus ihr entweder durch Ausscheidung oder durch Nekrobiose und Zerfall des Bakteriums frei werden. Ich glaube, daß nur auf diese Weise die erhöhte Pathogenität virulenter Stämme mit ihrer größeren Resistenz gegen die bakterienfeindlichen Wirkungen des Tierkörpers sich in Einklang bringen läßt, während die bisherige Endotoxinlehre an diesem Widerspruch scheitern mußte. Durch diese Auffassung, daß das Endotoxin durch einen Ausscheidungsprozeß frei wird, wäre wieder darauf hingewiesen, daß Endo- und Ektotoxine doch nicht so haarscharf sich voneinander trennen lassen, als seitens der Pfeifferschen Schule behauptet wird. Freilich kann Pfeiffer gegen die diversen neuerdings erhobenen Befunde von löslichen Giften in Bouillonkulturen den Einwand erheben, daß es sich um Auslaugung abgestorbener Bakterien handelt, die in Kulturen schon ziemlich früh in großer Menge vorhanden sind (Gotschlich und Weigang). Weniger freilich wird dieser Einwand geltend gemacht werden können gegenüber dem Befund von Lange, der Peritonealexsudat von einem seit 7 Stunden mit Typhus injizierten Meerschweinchen filtriert und toxisch findet, während keine Zerfallserscheinungen darin festzustellen sind. Auch bezüglich der bisher behaupteten Unmöglichkeit, Antitoxine zu bilden, scheinen ja die Befunde von Wassermann beim *Pyocyaneus*, von Chantemesse, Rodet, Besredka, Kraus und Stenitzer, Meyer und Bergell bei Typhus, von Ransom, Roux-Metschnikoff und Salimbeni, Brau und Denier bei Cholera, von Todd, Rosenthal, Kraus und Doerr, Kruse, Lüdke sowie Klein bei Dysenterie, von Markl beim Pestbakterium die Geltung dieses Satzes einzuschränken, wenn auch die Höhe der Antitoxinproduktion mit jener bei typischen Ektotoxinen keinen Vergleich aushält und eher jener bei Fermenten gleichzusetzen wäre, die ebenfalls ziemlich beschränkt ist. Ich glaube also, daß die Endotoxine nicht wie bisher nur als Zerfallsgifte, sondern mit eben solchem Recht als Ausscheidungsgifte angesprochen werden können, umgekehrt glaube ich, daß die sogenannten Ektotoxine zum Teil wenigstens auch Zerfallsgifte darstellen; in unseren Kulturen wird ja bekanntlich das Maximum des Giftes nicht auf der Höhe der Lebensfähigkeit der Kultur, sondern erst nach längerem Lagern der Bouillon (1—2 Wochen bei der

Diphtherie, einige Wochen bis Jahre beim Tetanus) erreicht und im Tierkörper sind ja bekanntlich beide Toxinbildner nur in beschränktem Maße haltbar und vermehrungsfähig, während der dritte Giftbildner, der *B. botulinus*, im tierischen Organismus überhaupt keine Wachstumsbedingungen findet. Umgekehrt soll aber nicht nach dem Beispiel verschiedener Autoren die Identität beider Arten von Giften behauptet werden; die Schwierigkeit und Begrenztheit der Antitoxinbildung, die Labilität und, wie es scheint, geringere toxische Wirksamkeit unterscheiden doch die Endotoxine als schwer diffusible Gifte von den leichter diffundierenden Ektotoxinen. Dieser Unterschied scheint mir dafür zu sprechen, daß vielleicht beide Arten nicht denselben Ursprung am Bakterienleib haben, daß vielleicht die Endotoxine dem Ektoplasma, die Ektotoxine dem Endoplasma, dem eigentlichen „Leistungskern“ des Bakteriums entstammen — also eine *Contradictio in adjecto*. Sollte sich diese hypothetisch ausgesprochene Anschauung über die Gifte experimentell beweisen lassen, so wäre es natürlich angezeigt, beide Arten entsprechend umzutaufen, um die falsche Suggestion über ihren Ursprung zu vermeiden.

Wie oben erwähnt, glaube ich nun, daß unter der Reizwirkung des Organismus die Endotoxine in größerer Menge gebildet und abgeschieden werden und daß die Höhe der Virulenz von der Fähigkeit der Endotoxinproduktion und -ausscheidung teilweise beeinflusst wird. Nun hat zwar v. Dungern für verschiedene Cholerastämme behauptet, „ihre Virulenz könne von ihrer Giftigkeit unabhängig sein“ (p. 153) — ich glaube aber, daß seine Versuche zur Entscheidung dieser Frage nicht hinreichen, da er zunächst seine Bakterien durch Chloroform oder Hitze abtötete, was für die labilen Endotoxine nicht gleichgültig sein dürfte, andererseits aber weisen diese Versuche doch eine, wenn auch mäßig höhere Giftigkeit des virulenten Stammes nach. Gegen alle solche Versuche, das Wesen der Virulenz *in vitro* zu ergründen (also auch Bindungsversuche, wie oben erwähnt), kann der Einwand erhoben werden, daß das Wesen der Virulenz erst im infizierten Tierkörper zur Entfaltung gelangt, daß man also zu solchen Versuchen nicht Kulturen von virulenten Stämmen auf künstlichen Nährböden, sondern tierische infektiöse Kulturen benutzen müßte, wie es z. B. Bail und Rubritius in ihren schönen Untersuchungen über „tierische Typhusbacillen“ getan haben.

Wir berühren hier eine Frage, die für die ganze Auffassung des Infektionsproblems von größter Bedeutung ist, den Zusammenhang zwischen Giftbildung und Virulenz. Faßt man mit Wassermann die Virulenz als „Summe der spezifisch krankmachenden Wirkungen eines Mikroorganismus“ (p. 244) auf, so muß man auch mit ihm übereinstimmen, wenn er sagt, die Trennung von Virulenz und Toxizität könnte „wohl prinzipiell, nicht aber für die im Organismus sich abspielenden Verhältnisse“ durchgeführt werden (p. 245). Schon Bouchard hatte in seiner trefflichen Infektionstheorie diesen Zusammenhang klar erfaßt und man wird sich wohl kaum der Einsicht verschließen können, daß Gifte entweder durch lokale Läsionen des infizierten Gewebes oder durch Hemmung der Phagocytose oder endlich durch allgemein toxische Wirkungen vor allem auf das zentrale Nervensystem, dessen Funktionstüchtigkeit für den Infektionsprozeß so wichtig ist, infektionsbegünstigend wirken können. Wenn Bail, um seinen Aggressiven eine Sonderstellung zu sichern, behauptet, Aggressivität hätte mit Toxizität nichts zu tun, wenn sie auch manchmal nebeneinander vorkämen, und wenn er trotz der Gegenbeweise von Doerr und Sauerbeck immer wieder auf seine

Behauptung zurückkommt (s. seine letzten Ausführungen über die Fortschritte der Aggressinlehre), so tut er eben den Tatsachen Gewalt an. Anstatt anzuerkennen, daß Aggressivität ein komplexer Begriff ist, der aus verschiedenen Teilfaktoren bestehen kann, denen bei verschiedenen Infektionserregern ungleiche Bedeutung zukommt, anstatt also die Toxizität als solchen Teilfaktor der Aggressivität zu betrachten, der übrigens verschieden entwickelt, wohl nie aber ganz fehlen kann, will er durchaus die begriffliche Auseinanderhaltung zu einer absoluten Trennung machen, mit Unrecht, wie mir scheint, und zum Schaden seiner Theorie (ganz abgesehen davon, daß Bails eigene Versuche über Cholera und Tuberkulose gegen eine solche Trennung sprechen). Wie oben hervorgehoben wurde, ist es ja schwer, anzunehmen, daß diejenigen Faktoren, die bei schon bestehender Infektion wirksam sind, im Initialstadium der Infektion vernachlässigt werden dürfen, wenn man auch zugibt, daß daneben noch andere Momente infektionsbegünstigend wirken können. Wir werden also annehmen müssen, daß jede Giftbildung im infizierten Organismus infektionsbegünstigend wirken kann, ob es sich nun um Ekto- oder Endotoxine handelt und daß sie durch die Reizwirkung des Organismus gesteigert wird. Dafür, daß unter dem Einfluß der Körpersäfte (auch ohne Bakteriolyse) die Endotoxinabgabe am besten vor sich geht, spricht die interessante Methode Besredkas, mittels der er lösliche Endotoxine von Typhus, Cholera und Pest bekommt; es werden die lebenden oder abgetöteten Bakterien mit Normalpferdeserum zusammengebracht, die agglutinierten Bakterien sinken zu Boden; die nach 24 Stunden dekantierte obere Flüssigkeit enthält das lösliche Endotoxin, während der Bodensatz der Bakterienleiber sich als atoxisch erweist. In demselben Sinne spricht wohl die Angabe von Bail, daß man gelöste Endotoxine durch Kultivieren von Typhusexsudatbakterien in Serumbouillon erlangt. Es ist demzufolge auch möglich, daß manche Bakterien außerhalb des infizierten Organismus überhaupt keine adäquaten Bedingungen für die Giftbildung finden und wir deshalb auch vergeblich in vitro nach ihren Giften fahnden. Auch im Tierkörper ist übrigens der Giftnachweis nicht allzu leicht, da doch das gebildete Gift zum großen Teil gebunden resp. umgewandelt wird in dem Maße, als es sich bildet und da es besonderer Umstände bedarf, um eines Ueberschusses von Gift habhaft zu werden in einer Menge, die für seinen Nachweis erforderlich ist. Bedenkt man diese Möglichkeiten und noch dazu die Labilität der meisten bakteriellen Gifte, so wird es nicht verwunderlich erscheinen, daß wir noch bei so vielen Krankheitserregern keine Gifte kennen sowie daß selbst in Fällen prägnanter Giftbildner der Nachweis des Giftes im Tierkörper so schwer gelingt (Diphtherie, Tetanus). Dafür, daß tatsächlich die Reizwirkung des infizierten Organismus die Giftbildung der Bakterien steigern kann, spricht eine Reihe von Tatsachen, die bereits im I. Teile erörtert wurde.

Die für die Infektionsbegünstigung wohl wichtigste Wirkung der Endotoxine und der Gifte im allgemeinen ist zweifellos diejenige auf die Leukocyten, da es wahrscheinlich ist, daß auf sie überhaupt jede leukotaktische Wirkung von Bakterien zurückzuführen ist. Nach einem allgemein biologischen Gesetz kann jeder Reiz je nach seiner Intensität auf die wanderungsfähigen Leukocyten zuerst anziehend, sodann abstoßend und endlich abtötend einwirken. Will man nicht telepathische Sensibilität als Grundlage positiver oder negativer Leukotaxis annehmen, so muß man wohl ausgeschiedene diffusible Bakterienteilchen dafür ver-

antwortlich machen, die je nach ihrer Konzentration positiv oder negativ chemotaktisch auf die Wanderzellen einwirken. Bei einer Reihe von Infektionserregern — so bei Typhus, Paratyphus, Coli, *Pyocyaneus*, Cholera, *Tetragenus*, Kapselbakterien — konnte ich feststellen, daß bei der Auflösung der Bakterienzelle oder im Innern von Phagocyten leukotoxische Endotoxine oder, wie ich sie benannt habe, Endoleukotoxine gebildet werden, die eine Degeneration und Abtötung der Leukocyten verursachen. Solche Wirkungen wurden schon früher, freilich ohne daß man sie systematisch untersuchte und zusammenfaßte, bei vielen Infektionen beschrieben (Milzbrand, Schweinerotlauf, Typhus, Paratyphus, Coli, Cholera, *Pyocyaneus*, Pneumokokken, Meningokokken, Gonokokken, Tuberkulose) und in jedem Eiter sind sie in großer Ausdehnung zu sehen. Außer diesen Endoleukotoxinen kommen noch ektotoxische Leukotoxine in Betracht, die von manchen Bakterien ausgeschieden werden, es ist dies das Leukocidin der Staphylokokken (Denys-Van de Velde, Schattenfroh, Bail, Neisser-Wechsberg), des *B. phlegmones emphysematosae* Fraenkel-Welch (Kamen), das von mir beschriebene Leukotoxin des Rauschbrand- und Oedembacillus sowie das von Ruediger festgestellte Streptokokkenleukotoxin. Von der Schnelligkeit und Höhe der Produktion dieser Leukotoxine wird es nun abhängen, wie sich die Leukocyten zu einem bestimmten Infektionserreger verhalten werden. Die Versuche von Besson bezüglich des Oedembacillus, diejenigen von Leclainche und Vallée bezüglich des Rauschbrandbacillus zeigen deutlich die infektionsbegünstigende Wirkung der negativen Chemotaxis, die von den Toxinen dieser Bakterien ausgeübt wird; meine Untersuchungen zeigen, daß diese negative Leukotaxis auf das von diesen Keimen ausgeschiedene Leukotoxin zurückzuführen ist, das schon in geringer Konzentration vermag die Leukocyten fernzuhalten und auf diese Weise die für die Erreger verhängnisvolle Phagocytose einzuschränken oder zu unterdrücken. Auf diese infektionsbegünstigende Wirkung der Leukotoxine zuerst hingewiesen zu haben (obzwar sie zu jener Zeit noch gar nicht bekannt waren), ist das Verdienst Bouchards; später hat Deutsch in seiner geistreichen Theorie der Infektion ihnen eine entscheidende Rolle zugewiesen und sogar in ihnen den alleinigen Träger der Virulenz sehen wollen, was wohl zu weit gegriffen scheint. (Ähnliche Ansichten vertrat auch schon früher Maurel.) Es ist jedoch nicht auszuschließen, daß sie auf Zustandekommen und Ausbreitung der Infektion in manchen Fällen einen bestimmenden Einfluß haben können. So z. B. konnte ich beim Tetanusbacillus in den Kulturen kein ausgeschiedenes Leukotoxin feststellen (vielleicht bildet er im Tierkörper welches, aber wohl in geringer Menge), dem würde auch die sehr bescheidene Vermehrungsfähigkeit im Tierkörper entsprechen, während der Oedem- und Rauschbrandbacillus als gute Leukotoxinbildner sich darin üppig zu vermehren pflegen. Sodann läßt sich ein Zusammenhang zwischen Virulenz und Leukotoxinproduktion feststellen; wie schon oben erwähnt (I. Teil), bilden nur virulente Anaërobenstämme das Leukocytengift, avirulente dagegen keins, erlangen aber durch Tierpassagen die Fähigkeit der Leukotoxinproduktion und Virulenz; ähnliches stellten Neisser und Wechsberg bei Staphylokokken fest.

Nachdem aber der Akt der Phagocytose als solcher zum Schutze des Organismus nicht ausreicht, vielmehr die Aufnahme der Bakterien von ihrer Verdauung gefolgt werden muß, soll sie ein wirksames Schutz-

mittel abgeben, so ist es umgekehrt auch denkbar, daß Bakterien, auch wenn sie von Leukocyten aufgenommen werden, den verdauenden leukocyten Enzymen (den Endokomplementen von Pettersson) Widerstand leisten können und daß darin auch ein Teilfaktor der Infektiosität bestehen kann. Sehen wir ja im Schweinerotlauf eine Infektion, wo trotz massenhafter Phagocytose die Bakterien im Innern der Phagocyten (bei letaler Infektion) sich erhalten und wohl auch vermehren. Auch hier könnte vielleicht die Resistenz auf reaktive Hypertrophie des Ektoplasmas zurückzuführen sein, doch begnüge ich mich mit dieser hypothetischen Andeutung, da die Frage überhaupt noch nicht experimentell untersucht wurde.

Endlich wäre noch ein Punkt zu berühren; unsere Vorstellung von der pathogenen Wirkung der Infektionserreger wird stark von dem Giftbegriff beherrscht, allzu stark vielleicht und einseitig wohl unter dem suggestiven Einfluß der fast fabelhaften Wirkung eines Tetanusgiftes. Nun ist es aber wohl möglich, wie Schattenfroh und Grassberger mit Recht hervorheben, daß auch ganz andere Einwirkungen, die durchaus nichts mit Giftwirkung zu tun haben, an der Pathogenität der Bakterien beteiligt sein können. Sie sprechen dabei die Möglichkeit aus, daß z. B. irgend ein lebenswichtiger, aber in geringer Menge im Körper vorhandener Stoff von den Bakterien fermentativ zerlegt wird und daß dann sein Mangel den Tod herbeiführt. Sollte zukünftige Forschung zeigen, daß Derartiges wirklich vorkommt, so könnte man ebenfalls daran denken, daß im Kontakt mit dem zu umwandelnden Substrat die Bakterien die Fähigkeit seiner Umsetzung erwerben oder steigern, wofür es ja zahlreiche Beispiele in der Verdauungsphysiologie gibt. Es wäre dann auch diese pathogenetische Funktion wie die anderen die Beantwortung des adäquaten Reizes, der vom zu infizierenden Organismus auf die Infektionserreger ausgeübt wird und zwar eines Nahrungsreizes, wie wir ihn oben schon postuliert haben.

In unseren bisherigen Ausführungen haben wir nur den einzelnen Infektionsprozeß ins Auge gefaßt; nun wissen wir aber, daß dieser meistens nicht isoliert bleibt, sondern daß an ihn direkt oder indirekt eine Reihe von Infektionen sich anschließen können. Nicht jedes einzelne Bakterium, das in den Tierkörper gelangt, wird gleich schnell und gleich stark auf diesen reagieren, sich an ihn anpassen; bei manchen wird die Anpassung sich als ungenügend erweisen, vielleicht bei vielen, und sie werden den Abwehrkräften des Organismus zum Opfer fallen. Auf diese Weise wird eine Auslese unter den infizierenden Keimen vorgenommen, nur die genügend angepaßten werden sich erhalten können. Wiederholt sich dieser Prozeß, so wird die Anpassung vollkommener, in jedem neuen Tier wird sie prompter eintreten, ausgiebiger ausfallen, da die Bakterien bekanntlich äußerst anpassungsfähig sind und erworbene Eigenschaften ziemlich leicht fixieren (wohl auch ablegen). Die durch Tierpassagen erlangte Virulenzsteigerung ist ebenso eine sukzessiv sich vervollkommnende Anpassung. Daß eine derartige Vervollkommnung tatsächlich möglich ist, dafür spricht folgende Beobachtung: entnimmt man einem mit Typhusbacillen letal infizierten Meerschweinchen das Exsudat, so erweisen sich die Bacillen als serumfest, sind jedoch noch der Phagocytose zugänglich, da die während der 8—12-stündigen Infektion erlangte Anpassungsgrad nicht ausreicht, ihnen Phagocytoseresistenz zu sichern (Bail und Rubritius). Züchtet man dagegen die Typhusbacillen aus einem Typhuskranken, wo sie jedenfalls schon längere Zeit gehaust

haben, so sind sie nun resistent gegen Phagocytose, haben also einen höheren Grad von Resistenz erreicht (Hektoen). Gelangt nun so ein angepaßter Keim in den Tierkörper, so ist es nicht nur die Beantwortung der darin auf ihn einwirkenden Reize, die für den Infektionsmechanismus in Betracht kommt, sondern auch die in früheren Infektionen erworbene Reaktionsfähigkeit, d. h. Reaktionsschnelligkeit und Reaktionsstärke, die er also bereits mitbringt und die durch den gegenwärtigen Reiz nur zur Auslösung gebracht wird. Auch den Grad und die Art der Infektiosität verschiedener Bakterienarten kann man in diesem Sinne als die durch die Species fixierte und in ihrem Protoplasma präformierte Reaktionsfähigkeit auf den zu infizierenden Organismus bezeichnen. In seiner interessanten Arbeit über Widerstandsherabsetzung bezeichnet Trommsdorff treffend die natürliche Resistenz des Tierkörpers als „Reaktionsbereitschaft bzw. Tüchtigkeit des Organismus“ (p. 84). Ebenso zeigt Cole, daß bei erworbener Bakterienimmunität der Tierkörper, nachdem die spezifischen Serumstoffe schon verschwunden sind, noch die Fähigkeit behält, auf den ihm schon gewohnten Reiz der Bakterieneinwirkung schneller und stärker Antikörper zu bilden, als der normale. Es ist also naheliegend, auch die Virulenz der Bakterien, das Korrelat der Resistenz resp. Immunität des Organismus, ebenfalls als Reaktionsbereitschaft und Tüchtigkeit zu bezeichnen, womit ausgedrückt wird, daß die Eigenschaften der Bakterien, denen sie die Infektionsmöglichkeit verdanken, im Moment der Invasion nicht bereits voll ausgebildet da sein müssen, sondern daß es genüge, wenn die potentiell vorhandenen erst während der Infektion ausgebildet werden und in Aktion treten. Wohl werden Fälle vorkommen, daß bei sehr ausgeprägter Anpassung die Umwandlung des Bakteriums auch außerhalb des Organismus andauert und daß es also in voller Rüstung den Kampfplatz einer neuen Infektion betritt, speziell wenn bei Kontaktinfektion ein Kampf unmittelbar an den anderen sich reiht, ohne daß ein Aufenthalt in der Außenwelt die Kontinuität der Reizwirkung unterbricht. Daneben werden aber auch Fälle eintreten, wo während des Intervalls die erworbenen Veränderungen zurückgehen und nur die Reaktionsbereitschaft zurückbleibt, die unter geeigneten Umständen sich wieder betätigen kann.

In den obenstehenden Ausführungen haben wir gesehen, wie vielerlei Faktoren, auch wenn man dabei nur den Infektionserreger ins Auge faßt, das Zustandekommen einer Infektion bedingen. Erst wenn man aber sich vergegenwärtigt, daß nicht bei allen Bakterienarten alle diese Faktoren vorkommen, sondern bei verschiedenen verschiedene Kombinationen, und zwar jeder Faktor in wechselnder Größe, wenn man weiter das andere mitbeteiligte Agens, den infizierten Organismus mit der generischen, Rassen- und individuellen Physiognomie, mit der verschiedenartigsten Ausbildung seiner Abwehrkräfte sich vorstellt, dann erst kann man die ganze Mannigfaltigkeit der möglichen Krankheitsbilder, die Verwickelung der daraus resultierenden Probleme ermessen, wenn auch nicht ergründen. Und dazu ist ja noch der Organismus, den wir hier als Ganzes betrachtet haben, aus verschiedenen Teilen, Organen und Geweben zusammengesetzt, und so ist es denn möglich, daß die Anpassung nicht den ganzen Organismus, sondern ein bestimmtes Organ, einen bestimmten Infektionsweg betrifft, daß also das Bakterium die oben besprochene Organvirulenz entwickelt.

Freilich sind diese Möglichkeiten nicht unbegrenzt; jede Bakterienart hat die Grenze ihrer Anpassungsmöglichkeit sowie die Entwicklungs-

richtung der Anpassung in ihrer protoplasmatischen Struktur vorgezeichnet und hier trifft das eigentlichste, tiefste Problem der Virulenz mit dem Rätsel des Lebens zusammen. Andererseits wird natürlich der zu infizierende Organismus je nach seiner Art darauf Einfluß haben, inwieweit keimplasmatisch garantierte Möglichkeiten auch ausgenutzt werden können. Es können bei einer Tierart gewisse Bakterien nicht zur Vermehrung kommen, weil sie den Abwehrkräften erliegen, ehe sie es vermocht haben, sich genügend anzupassen, bei einer anderen eine tödliche Infektion verursachen, weil der zeitliche Eintritt, Verlauf und Grad der Abwehrreaktion die Ausbildung des „tierischen Zustandes“ erlaubt haben. Natürlich kann auch innerhalb der durch den Artcharakter gezogenen Grenzen je nach der Art des einwirkenden Reizes, d. h. je nach der zu infizierenden Tierart die Anpassungsart des Bakteriums quantitativ und qualitativ variieren, es kann hier der eine, dort der andere Teilfaktor der Anpassung in den Vordergrund treten. Aus dem Zusammenspiel aller dieser Vorgänge ergibt sich erst der eigentliche Begriff der Virulenz und zwar der relativen Virulenz einer gegebenen Bakterienart für eine bestimmte Tierspecies unter gegebenen Umständen. Die Form der daraus resultierenden Infektionsgleichung fassen wir kurz zu einer der gebräuchlichen Infektiositätsbemessungen zusammen, indem wir von Ganz- und Halbparasiten sowie von Saprophyten sprechen. Ganzparasiten stellen den höchsten Grad der Anpassungsfähigkeit, d. h. der Reaktionsbereitschaft und Tüchtigkeit vor; die meisten von ihnen entwickeln im Tierkörper eine bedeutende Ektoplasmahypertrophie in Form von Kapselbildung. Entsprechend der hohen Anpassungsfähigkeit, zeigen die Ganzparasiten die größte Variationsbreite der Virulenz von der Avirulenz abgeschwächter Rassen bis zur maximalen Virulenz, wo ein Individuum genügt, um tödliche Infektion herbeizuführen. Eine Milzbrandkultur z. B. zeigt nebeneinander verschiedene Anpassungsgrade, indem selbst im empfänglichsten Organismus, in der Maus oder im Meerschweinchen, ein großer Teil der Bakterien durch Phagocytose vernichtet wird, und nur ein kleiner Rest zur Kapselbildung und Vermehrung gelangt. Da in dieser Gruppe das Bakterienindividuum selbst phagocytose-resistent wird und die Ausscheidung von Ektoplasmateilchen nur in beschränktem Maße vor sich zu gehen scheint, kann man auch bei tödlichen Infektionen Leukocytenzufluß beobachten, wenn er auch den gekapselten Keimen gegenüber sich als machtlos erweist (Milzbrand, Streptokokken). Nicht negative Leukotaxis also, sondern Phagocytoseresistenz ist hier für das Zustandekommen der Infektion maßgebend. Eine besondere Gruppe bietet die Eigentümlichkeit, daß in ihrem Ektoplasma Fett- und Wachssubstanzen eingelagert sind, die wahrscheinlich eine besondere Resistenz gegen bakterienfeindliche Einwirkungen des Tierkörpers gewährleistet; da diese Eigentümlichkeit auch außerhalb des Tierkörpers andauert und somit nicht erst im Anfang der Infektion entwickelt zu werden braucht, so bieten diese Arten (Tuberkulose, Lepra, Aktinomykose, Malleus) einen beträchtlichen und relativ konstanten Virulenzgrad, wenn auch natürlich andere Virulenzfaktoren auch bei ihnen variations- resp. im Organismus steigerungsfähig sein können (vgl. Fraenkel und Baumann, Vagedes). Sollten weitere Beobachtungen die Bedeutung dieser Ektoplasmabestandteile als Abwehrmittel bestätigen und auch die Angaben von Deycke-Pasche und Reschad-Bey sowie Neuberg und Reicher sich bewahrheiten, daß durch Immunisation der Tierkörper seine lipolytischen Fähigkeiten

steigert, so wären damit einer neuen „Immunochemie“ aussichtsvolle Wege eröffnet. Eine geringere Anpassungsfähigkeit und eine dementsprechend kleinere Variationsbreite der Virulenz bieten die Halbparasiten; sie müssen daher auch meist in größerer Menge in den Körper gelangen, soll die Infektion stattfinden, auch sind sie zumeist an gewisse Infektionspforten gebunden, d. h. nur gewissen Abwehrvorrichtungen gewachsen, was bei den Ganzparasiten seltener der Fall ist. Die Anpassung des Bakterien-individuums in Form von Ektoplasmahypertrophie kommt hier nicht so schnell und wohl auch in geringerem Grade zustande, die reichlicher ausgeschiedenen resp. freiwerdenden „freien Rezeptoren“ resp. Endotoxine spielen hier eine bedeutende Rolle durch Bindung der Antikörper, negative Leukotaxis und Giftwirkung. Nur graduell unterscheiden sich von ihnen die Saprophyten, wie am Beispiel des *Heubacillus* zu sehen ist, der an der Grenze zwischen beiden Gruppen steht, d. h. unter besonders günstigen Umständen pathogen werden kann (Nittis, Baenziger, Silberschmidt, Kayser, Weil und Nakayama, Weil). Es sei hier noch einmal hervorgehoben, daß diese Klassifikation nicht die Bakterienart als solche betrifft, sondern immer nur ihr relatives Virulenzverhältnis zu einer Tierspecies, wenngleich die Gleichartigkeit der Anpassungserscheinungen für eine Bakterienart gegenüber nicht allzuweit entfernten Tierspecies nicht geleugnet werden kann. Andererseits kann man sich der Einsicht nicht verschließen, daß diese Klassifikation (ich folgte der von Bail aufgestellten), wie jede andere übrigens auch, eine Art von Vergewaltigung ist, die der menschliche ordnende Gedanke an der Mannigfaltigkeit der Erscheinungen verübt und daß Beobachtung und Versuch uns eine große Anzahl von Zwischenstufen zeigen, die die einzelnen Gruppen zu einer kontinuierlichen Reihe verbinden.

Um diese theoretische Erörterung des Infektionsproblems abzuschließen, möchte ich noch einmal einige Punkte derselben besonders hervorheben und bei dieser Gelegenheit auch auf die Differenzen hinweisen, die sich zwischen meinem Erklärungsversuch und der in letzter Zeit viel besprochenen und viel umstrittenen Aggressinlehre ergeben.

1) Meine Auffassung der Infektion ist eine dynamische, indem sie die Angriffs- und Abwehrfunktionen der pathogenen Bakterien erst im Verlaufe der Infektion entstehen läßt als Reaktion auf den Anpassungsreiz, der vom Organismus ausgeht.

2) Der Hauptfaktor dieser Anpassung des Bakteriums an den Organismus besteht in der reaktiven Hypertrophie des Ektoplasmas, während die vermehrte Ausscheidung von endotoxisch und leukotoxisch wirksamen Ektoplasmatheilen (freien Rezeptoren) für die Infektionsbegünstigung erst in zweiter Reihe in Betracht kommt.

Hier liegt der Hauptunterschied gegenüber den Theorien von Kruse, Deutsch, Bail, die in einseitiger Weise nur der Sekretion eine Rolle im Infektionsmechanismus zuerkennen. Während Bail seine Aggressine „materialisierte Eigenschaften“ nennt, versuche ich für dieses Abstrakt ein Substrat zu finden und es in der Bakterienzelle zu lokalisieren.

3) Die Virulenz eines Bakteriums, von der Seite des Bakteriums her betrachtet, stellt sich dar als Summe aller oben erwähnten Faktoren, deren Kombination und Entwicklungsgrad bei diversen Arten vielfach variieren kann. Die Eigenart des infizierten Organismus und seiner

Abwehr sowie die Vergangenheit des Infektionserregers entscheidet, inwiefern die im Artcharakter des Erregers fundierte Reaktionsfähigkeit zur Betätigung gelangt.

Meine Anschauung wird also den Resultaten von Wassermann und Citron gerecht, die in aggressiven Exsudaten freie Rezeptoren vermuten, ebenso denen von Doerr und Sauerbeck, die die Toxizität dieser Exsudate nachgewiesen haben. Freilich ist mit diesen Faktoren das Wesen der Virulenz meines Erachtens nicht erschöpft. Die von Wassermann und Citron festgestellte Möglichkeit, aggressive Extrakte in vitro mit Hilfe von Wasser oder Serum zu bekommen, stimmt mit der Ektoplasmatheorie, die ja auch bei Kulturbakterien die Existenz dieser Schutzschicht akzeptiert. Man muß nur durch die Menge der extrahierten Bakterien das ersetzen, was im Tierkörper die reaktive Hypertrophie liefert. Freilich bleibt auch die wichtige Methode von Wassermann und Citron im Grunde genommen eine Verwendung von „tierischen Bacillen“, da doch die hypervirulenten Stämme, mit denen sie arbeiten, auch in der Kultur wenigstens teilweise den „tierischen Zustand“ beibehalten. Die Frage, ob außer der Hypertrophie vorgebildeter Stoffe und der Steigerung normaler Vorgänge nicht noch etwas prinzipiell Neues im Tierkörper als Reaktionsprodukt an den Bakterien auftritt, möchte ich bis auf weiteres offen lassen.

4) Der prinzipielle Unterschied zwischen Ekto- und Endotoxinen besteht nicht, indem beide Arten von Giften sowohl durch vitale Ausscheidung als durch Zerfall der Bakterienzelle frei werden können.

5) Die dynamische Auffassungsweise wird von den aggressiven Funktionen auch auf die eigentlich krankmachenden ausgedehnt, namentlich auf die Giftbildung, die durch die vom Organismus ausgehenden Reize angeregt resp. gesteigert wird.

Während einseitig gedeutete Befunde an Choleravibrionen, die auf der niedrigsten Stufe der Pathogenität stehen, die Grundlage für die erste Infektionstheorie abgaben, während Bail in extrem pathogenen Keimen den Ausgangspunkt zu seiner Aggressintheorie fand, habe ich versucht, allen bisher gewonnenen Erkenntnissen über Pathogenität resp. Virulenz (die Scheidung von Aggressivität und Virulenz, die Bail und Kikuchi aufstellen, kann ich als den natürlichen Verhältnissen nicht entsprechend und undurchführbar nicht akzeptieren), gerecht zu werden und unter Berücksichtigung von Ganz- wie von Halbparasiten eine möglichst einheitliche Zusammenfassung des vorliegenden Tatsachenmaterials zu geben. Wie in der Lehre vom Licht, der Elektrizität und Magnetismus materielle Hypothesen an die Stelle rein energetischer treten, so wollte ich auch in der Ektoplasmatheorie an Stelle des unfassbaren, mystischen Virulenzbegriffes eine materielle Virulenzhypothese treten lassen, die unseren diesbezüglichen Vorstellungen einen besseren Halt verspricht, und, was wohl das Wichtigste sein dürfte, der experimentellen Forschung neue Wege weisen, der gedanklichen Arbeit neue Fragestellungen aufstellen kann. Daß vieles an ihr noch hypothetisch ist, liegt in der Natur der noch so wenig geklärten Frage und findet seine Entschuldigung darin, daß, wie Mach treffend sagt, „jede werdende Wissenschaft sich in Vermutungen und Gleichnissen bewegt“.

Nachtrag während der Korrektur.

Seit der Niederschrift obiger Arbeiten (Juli 1907) ist von verschiedenen Seiten (Löhlein, Wassermann, Sauerbeck, Gotschlich) mit Nachdruck die Bedeutung der Anpassung der Bakterien an den infizierten Organismus hervorgehoben worden, was mir als Bestätigung der oben ausgeführten Anschauungen sehr bedeutungsvoll erscheint. Zu besonderer Genugtuung gereicht mir die Uebereinstimmung meiner Ansichten über Leukotoxine und Aggressine mit denjenigen eines so hervorragenden Forschers, wie Metschnikoff (Lubarsch-Ostertag, XI. p. 677—678). Bezüglich meiner Infektionstheorie habe ich vor allem die weitgehende Ähnlichkeit meiner Anschauungen mit den schönen Ausführungen von Sauerbeck über „Bakterienimmunität durch strukturelle Anpassung“ (ibid. p. 1002) hervorzuheben. Auch hat der verdienstvolle Schöpfer der neueren Aggressintheorie, Bail, selbst in letzter Zeit (Hygienekongreß zu Berlin, September 1907) Ansichten geäußert, die sich in vielen Punkten mit meiner Ektoplasmatheorie decken. Ebendasselbst haben Schattenfroh und Grassberger eine Hypothese funktioneller Anpassung der Infektionserreger an das infizierte Substrat vorgetragen, die auch im II. Teil meiner Arbeit sich ausgesprochen findet. Alle diese Uebereinstimmungen scheinen dafür zu sprechen, daß wohl in diesen Bahnen die weitere Forschung sich wird bewegen müssen.

Krakau, 15. Dezember 1907.

Literatur

(soweit nicht bereits im I. Teil angeführt).

- Axamit, O., Centralbl. f. Bakt. Bd. XLII. Heft 4.
 Babes, V., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 419—431.
 Baenziger u. Silberschmidt, Verh. d. d. ophthalmol. Ges. Heidelberg. 1903.
 Bail, O., Wien. klin. Wochenschr. 1907. p. 275—281.
 —, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 45.
 —, Berl. klin. Wochenschr. 1907. p. 745—748.
 Bail, O. u. Kikuchi, Y., Arch. f. Hyg. Bd. LIII.
 Berndt, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. p. 648.
 Besredka, Ann. de l'Inst. Past. 1906. No. 2.
 —, ibid. Heft 4.
 Boni, J., Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVIII. p. 705.
 Bouchard, Actions des produits sécrétés par les microbes pathogènes. Paris 1893.
 Brau et Denier, Ann. de l'Inst. Past. 1906. p. 578—592.
 Brieger u. Mayer, Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 18.
 Brieger, Deutsche med. Wochenschr. 1902. No. 27.
 Chantemesse, Compt.-rend. Soc. de Biol. 1897. p. 96.
 Charrin de Nittis, Compt.-rend. Soc. de Biol. T. XXVI. p. 711.
 Citron, J., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIII. p. 551—552. — Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 29.
 Courmont, P., bei R. de Longchamps.
 Danysz, J., Ann. de l'Inst. Past. 1900.
 Defalle, ibid. 1902. p. 756.
 Deycke Pascha-Reschad Bey, Deutsche med. Wochenschr. 1906.
 v. Dungern, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XX. p. 147—153.
 Feinberg, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXVII. p. 417.
 Fraenkel, C., Baumann, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LIV. p. 247.
 Fraenkel, Otto, Münch. med. Wochenschr. 1897. No. 39.
 Hektoën, L., Journ. of the Amer. Med. Assoc. 1906. May 12.
 —, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV. p. 461.
 Kayser, H., Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIII. p. 241.
 Klein, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV. p. 144—149.

- Kraus, R. u. Dörr, R., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LV.
 Kraus, R. u. v. Stenitzer, Wien. klin. Wochenschr. 1907. No. 12. p. 344—346.
 Kruse, Ziegl. Beitr. Bd. XII. p. 333—352. — Deutsche med. Wochenschr. 1907. No. 8, 9.
 Lange, Compt.-rend. Soc. de Biol. 1905. 6. Mai.
 Liesenberg u. Zopf, Centralbl. f. Bakt. Bd. XII. p. 659—661.
 Levy, E. u. Fornet, Deutsche med. Wochenschr. 1906. p. 1039.
 de Longchamps, R., Le staphylocoque pyogène. Thèse de Paris, 1897.
 Lüdke, H., Centralbl. f. Bakt. 1905. Heft 3, 4, 5.
 Markl, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXVII.
 Matzuschita, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXV. p. 496.
 Maurel, E., Recherches expérimentales sur les leucocytes du sang. Fasc. 5. p. 7.
 Meinicke, P. u. Jaffé-Flemming, Zeitschr. f. Hyg. Bd. LII. p. 416.
 Müller, P. Th., Centralbl. f. Bakt. Bd. XXXIV. p. 460—461.
 Meyer, F., Bergell, Berl. klin. Wochenschr. 1907. p. 568—572.
 Nakanishi, Münch. med. Wochenschr. 1900. No. 6. — Centralbl. f. Bakt. Bd. XXX.
 Heft 5, 6.
 Neisser, M., Shiga, K., Deutsche med. Wochenschr. 1903. No. 4.
 Neuberger, C. u. Reicher, Münch. med. Wochenschr. 1907. p. 1725.
 Obermeier-Pick, Wien. klin. Wochenschr. 1902. No. 22.
 Pane-Lotti, Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIII. Heft 7, 8.
 Pettersson, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LXIII. Heft 1—4.
 Pianese, zit. bei Kern, Centralbl. f. Bakt. Bd. XXII. p. 166.
 Raciborski, M., Bull. ac. sc. de Cracovie. 1905. Heft 7. p. 461.
 Radziewsky, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXXIV. p. 442—443.
 Ransom, Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 29.
 Rodet, A., Lagriffont, Aly Wahby, Centralbl. f. Bakt. 1906. Heft 4.
 Rosenow, Journ. of Inf. Dis. Bd. IV. Heft 3. p. 285—296.
 Rosenthal, Deutsche med. Wochenschr. 1901. No. 7.
 Roux-Metchnikoff-Salimbeni, Ann. de l'Inst. Past. T. X. p. 257.
 Ruediger, F., Journ. of the Amer. Med. Ass. 1905. Jan. 21.
 Sauerbeck, E., Zeitschr. f. Hyg. Bd. LVI. p. 81—112.
 Schattenfroh, A., Arch. f. Hyg. Bd. XXXI. p. 1—81.
 Silberschmidt, W., Ann. de l'Inst. Past. 1903. p. 268.
 Todd, R., Journ. of Hyg. 1904. Vol. IV.
 Trommsdorff, R., Arch. f. Hyg. Bd. LIX. p. 64.
 Unna, Mon. f. prakt. Dermatol. Bd. XXXI. 1900.
 Vagedes, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXVIII.
 van de Velde, Cellule. Bd. X. 1894. p. 403.
 Wassermann, A., Zeitschr. f. Hyg. Bd. XIV.
 Wassermann, A., u. Citron, J., Deutsche med. Wochenschr. 1905. No. 28.
 Weil, E., Centralbl. f. Bakt. Bd. XLIV. p. 164—178.
 Weil, E. u. Nakayama, Berl. klin. Wochenschr. 1906. Heft 3. p. 70—72.
 Zettnow, Zeitschr. f. Hyg. Bd. XXX. No. 18.

Nachdruck verboten.

Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination.

[Aus dem pathologisch-anatomischen Institute in Wien (Vorstand: Prof. Weichselbaum).]

Von Dr. Karl Landsteiner und Dr. Hugo Raubitschek.

I.

Hämolysische (fettartige?) Substanzen aus Trypanosomen.

In Anbetracht des Umstandes, daß bei Protozoenerkrankungen häufig anämische Zustände beobachtet werden, haben wir nach hämolysischen Stoffen bei Trypanosomen gesucht. Es ließen sich wirklich aus Trypanosomenleibern hämolysische Substanzen gewinnen, die anscheinend den Hämolysinen, die aus Organextrakten dargestellt wurden¹⁾, ähnlich sind.

Parasitenreiches Blut von Ratten, die mit *Trypanosoma equiperdum* infiziert waren, wurde geschüttelt, mit physiologischer Kochsalzlösung versetzt, zentrifugiert, der Bodensatz noch einigemal in NaCl aufgeschwemmt und zentrifugiert. Man erhält so, wenn man die Zentrifuge bis zum Sedimentieren der roten Blutkörperchen wirken läßt, getrübe Flüssigkeiten, in denen Trypanosomen in großer Menge vorhanden sind. Nach ungefähr 24-stündigem Aufenthalt der Emulsionen im Eiskasten sedimentieren die Trypanosomen, und können dann leicht auf der Zentrifuge mit physiologischer Kochsalzlösung gewaschen werden. Der in wenig NaCl-Lösung aufgeschwemmte Bodensatz der gewaschenen Protozoen übt dann auf Blutkörperchen eine wenn auch nicht starke, so doch deutliche hämolysische Wirkung aus, wie die folgenden Tabellen zeigen.

Tabelle I.

Abgelesen nach 2-stündigem Verweilen bei 37° C und einer Nacht im Eiskasten.

Trypano- somen- emulsion	Pferdeblut 5-proz.	Hammelblut 5-proz.	Schweineblut 5-proz.	Meerschwein- chenblut 5-proz.	NaCl	
1,0	0,5					stark
0,5	0,5				0,5	schwach
0,1	0,5				0,9	⊕
1,0		0,5				deutlich
0,5		0,5			0,5	schwach
0,1		0,5			0,9	⊕
1,0			0,5			schwach
0,5			0,5		0,5	schwach
0,1			0,5		0,9	⊕
1,0				0,5		sehr stark
0,5				0,5	0,5	stark
0,1				0,5	0,9	deutlich
	0,5				1,0	⊕
		0,5			1,0	⊕
			0,5		1,0	⊕
				0,5	1,0	⊕

1) Vergl. Metschnikoff-Tarasewitch, Ann. de l'Inst. Pasteur. 1899, 1902. — Korschun und Morgenroth, Berl. klin. Wochenschr. 1902. — Donath und Landsteiner, Wien. klin. Rundschau. 1902. Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLIII. 1903. — Noguchi, Proceed. of the soc. for exp. biolog. and medic. Vol. IV. 1907. — Landsteiner und Ehrlich, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLV. 1907. p. 247.

Tabelle II.

Die Trypanosomenemulsion (Tr.-E.) stand 3 Tage nach dem letzten Waschen im Eiskasten.

Tr.-E.	Tr.-E. 1 ^h 60° C	Tr.-E. 5' 100° C	Meerschwein- chenblut 5-proz.	NaCl	
1,0			0,5		komplett
0,5			0,5	0,5	fast komplett
0,1			0,5	0,9	Spur
	1,0		0,5		ø
	0,5		0,5	0,5	ø
	0,1		0,5	0,9	ø
		1,0	0,5		ø
		0,5	0,5	0,5	ø
		0,1	0,5	0,9	ø
			0,5	1,0	ø

Erwärmt man die Aufschwemmung, so verschwindet im allgemeinen die lösende Wirkung meist schon bei 60° C; doch schien einmal in der auf 100° C erwärmten Aufschwemmung sich wieder eine gewisse hämolysierende Wirkung zu zeigen. Durch längeres Stehen im Eiskasten nahm anscheinend die lösende Eigenschaft der Emulsion, vielleicht durch autolytischen Zerfall der Protozoen, zu.

Wurde die Trypanosomenaufschwemmung mit der 5-fachen Menge absoluten Alkohols versetzt und nach 1 Stunde Digestion (bei 37° C) der entstandene flockige Niederschlag filtriert, das Filtrat abgedampft, der Rückstand wieder in absoluten Alkohol aufgenommen, filtriert und abermals abgedampft, der neuerdings entstandene Rückstand in derselben Menge Kochsalzlösung wie das Ausgangsmaterial aufgenommen, so hatte auch die so bereitete schwach getrübbte Flüssigkeit hämolysierende Eigenschaft. Zur Kontrolle und Prüfung des verwendeten Alkohols wurden entsprechend hergestellte Abdampfrückstände von Alkohol in physiologischer Kochsalzlösung aufgenommen und geprüft.

Tabelle III.

10,0 Tr.-E. + 50,0 Alkohol absol. 1^h 37° C, dann filtriert, abgedampft, wieder in absol. Alkohol aufgenommen, filtriert, abgedampft, in 10,0 NaCl emulgiert, als Kontrolle (C) ebenso behandelte 10,0 NaCl.

Tr.-E. Alkohol- extrakt	C.	Meerschwein- chenblut	NaCl	
2,0		0,5		komplett
1,0		0,5	1,0	komplett
0,5		0,5	1,5	fast komplett
	2,0	0,5		ø
	1,0	0,5	1,0	ø
	0,5	0,5	1,5	ø
		0,5	2,0	ø

Die Kochsalzaufschwemmungen der Alkoholextrakte wurden im folgenden Versuch auf ihr Verhalten bei Siedehitze geprüft und behielten ihre hämolysierenden Eigenschaften bei.

Tabelle IV.

Trypanosomenemulsion, Alkoholextrakt (Tr.-E., A.-E.) ebenso wie in Tabelle III.

Tr.-E. A.-E.	Tr.-E. A.-E. 5' 100° C	Meerschwein- chenblut	NaCl	
2,0		0,5		komplett
1,0		0,5	1,0	fast komplett
	2,0	0,5		komplett
	1,0	0,5	1,0	fast komplett
		0,5	2,0	ø

Ein Zusatz von Serum übte eine hemmende Wirkung auf die Hämolyse aus.

Tabelle V.

Tr.-E.	Meerschwein- chenserum	Meerschwein- chenblut	NaCl	
2,0	0,5	0,5		deutlich
2,0	0,3	0,5	0,2	fast komplett
2,0	0,1	0,5	0,4	fast komplett
2,0	ø	0,5	0,5	komplett
ø		0,5	2,5	ø

Auf Grund der Alkohollöslichkeit, der Thermostabilität der Alkoholextrakte, des langsamen Tempos der Hämolyse, die im Eiskasten sich beträchtlich verstärkte, glauben wir berechtigt zu sein, unsere Stoffe den hämolysierenden Extrakten tierischer Organe an die Seite zu stellen und den Lipoidcharakter den lösenden Substanzen zu supponieren¹⁾.

Ein Gegenargument kann in der Thermolabilität der ursprünglichen Trypanosomenemulsionen kaum gesehen werden, da es festgestellt ist, daß die lipoiden Stoffe, wie Fettsäuren, Seifen, in Kombination mit Eiweißkörpern offenbar durch Entstehen von Verbindungen mit den beim Erhitzen sich ändernden Eiweißkörpern in Beziehung auf ihre hämolytischen Eigenschaften unwirksam werden²⁾. Ein endgültiges Urteil über die Zusammensetzung könnte erst nach der genaueren chemischen Untersuchung der Extrakte gegeben werden.

Es ist uns auch nicht möglich, eine bestimmte Ansicht darüber zu äußern, ob diese hämolysierenden Substanzen wirklich an der anämisierenden Wirkung der Trypanosomeninfektionen beteiligt sind. Nach den Resultaten von Tallqvist³⁾, der durch Injektion von aus tierischen Organen und aus Bothriocephalen gewonnenen Fettsubstanzen experimentell Anämien erzeugen konnte, kann man wohl geneigt sein, die Frage zu bejahen; Morgenroth und Reicher⁴⁾ haben sich der Tallqvistschen Auffassung angeschlossen; sie erzeugten durch intravenöse Injektion von Cobralecithid Anämien und konnten durch Darreichung von Cholestearin den Blutzerfall hintanhaltend.

1) Vergl. Kyes-Sachs, Berl. klin. Wochenschr. 1903. No. 2—4. — Noguchi, l. c. — Tallqvist, Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LXI. — Landsteiner-Ehrlich, l. c. — Noguchi, Biochem. Zeitschr. Bd. VI.

2) Noguchi, l. c. — Liebermann, Biochem. Zeitschr. Bd. IV. — Landsteiner-Ehrlich, l. c.

3) Zeitschr. f. klin. Med. Bd. LXI.

4) Berl. klin. Wochenschr. 1907. p. 1200.

Wir möchten trotzdem, da wir keinen direkten Beweis für die anämisierende Wirkung der beobachteten hämolysierenden Substanzen haben, diesen Zusammenhang im vorliegenden Falle noch nicht als erwiesen ansehen. Auch spricht vorderhand nichts dafür, daß die fraglichen Substanzen Lecithide und nicht vielmehr einfache Fettkörper sind.

II.

Alkohollösliche hämolysierende Stoffe aus Bakterien und Kulturflüssigkeiten.

Im Anschluß an die eben mitgeteilten Tatsachen und an die zahlreichen vorliegenden Beobachtungen über thermostabile, alkohollösliche, hämolytische Stoffe (Lipoide) in den verschiedenen tierischen Geweben haben wir auch Bakterienleiber und Kulturflüssigkeiten auf das Vorkommen solcher Stoffe geprüft.

Wir dachten hierdurch möglicherweise eine Aufklärung über jene von vielen Autoren beobachteten blutlösenden Effekte von Kulturflüssigkeiten zu erhalten, die, weil die wirksamen Substanzen thermostabil sind und wenigstens zum Teil keinen Antigencharakter zu haben scheinen, nicht den eigentlichen bakteriellen Hämotoxinen zugehören dürften¹⁾.

Wir erhielten durch Alkoholextraktion einer Emulsion von *Pyocyanus*-Agarkulturen in Kochsalzlösung und durch Abdampfen des Alkohols einen Rückstand, der, in NaCl emulgiert, hämolytische Eigenschaften aufwies. Auch die Aufschwemmung der Bacillen selbst hatte, jedoch nicht konstant, eine blutlösende Wirkung.

Tabelle VI.

Die stark alkalische Emulsion wurde vor dem Versuch neutralisiert.

Pyoc.-Emuls.	Kaninchenblut 5-proz.	
1,0	0,5	komplett
0,1	0,5	fast komplett
0,01	0,5	teilweise
0,001	0,5	ø

Tabelle VII.

5,0 *Pyocyanus*kochsalzemulsion wird mit 25,0 Alc. abs. 1 Stunde bei 37° C digeriert der Niederschlag filtriert, das klare Filtrat auf dem Wasserbad abgedampft, der Rückstand abermals in Alcohol abs. aufgenommen und abgedampft; der jetzt entstandene Rückstand in 5,0 NaCl emulgiert, als Kontrolle (K.) werden 5,0 NaCl ebenso mit Alcohol behandelt.

Pyoc.-Emuls. neutralisiert	Pyoc.-Alkohol- extrakt	Meerschwein- chenblut 5-proz.	K.	
1,0		0,5		komplett
0,1		0,5		deutlich
	1,0	0,5		komplett
	0,1	0,5		Spur
		0,5	1,0	ø

Auch aus einem Kulturfiltrat (Reichel-Kerze) eines *Staphylokokken*stammes, das im unerhitzten Zustande sehr stark hämolysierte (0,001 noch deutlich) und das nach Erwärmen auf 60° C und 100° C

1) Literatur vergl. Kolle und Wassermann, Handb. d. pathog. Mikroorg. Ergänzungsband. p. 326, 345. — Kraus und Levaditi, Handb. d. Technik d. Immunitätslehre. Jena (Fischer) 1907.

allerdings viel schwächer (0,3 deutlich) Blutkörperchen löste, so daß bei diesem Stamme außer dem eigentlichen Staphylotoxin noch ein hitzebeständiger hämolytischer Körper anzunehmen ist, gelang es durch Behandlung des erhitzten Filtrates mit absolutem Alkohol in der früher angegebenen Weise eine allerdings nur schwach lösende Flüssigkeit zu erhalten. Kontrollen, die durch analoge Alkoholbehandlung einer sterilen Nährbouillon angestellt wurden, lösten nicht.

Tabelle VIII.

5,0 Reichel-Filtrat der Staphylokokkenkultur wurde 5' auf 100° C erwärmt, mit der 5-fachen Menge absoluten Alkohols gut geschüttelt, filtriert, das Filtrat abgedampft, in Alkohol aufgenommen, filtriert, das Filtrat abermals abgedampft; der Rückstand in 5,0 NaCl aufgeschwemmt. Es entstand eine diffus trübe Flüssigkeit, ebenso wurde 0,5 sterile Nährbouillon behandelt und als Kontrolle (K.) geprüft.

Staphylotoxin Alkoholextrakt	Kaninchenblut 5-proz.	K.	
1,0	0,5		komplett
0,5	0,5		fast komplett
0,25	0,5		deutlich
0,125	0,5		ø
	0,5	1,0	ø

Tabelle IX.

Pyocyaneuskulturfiltrat, Lackmus neutral. Versuchsanordnung wie in Tabelle VIII.

Dosis	Kulturfiltrat	Kulturfiltrat 5' 100° C	Alkohol- extrakt	Alkoholextrakt 5' 100° C	Aether- extrakt
1,0	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,5	komplett	komplett	komplett	komplett	komplett
0,25	fast komplett	fast komplett	sehr stark	sehr stark	stark
0,12	ø	ø	ø	ø	ø

Bei manchen Bakterienstämmen konnte man überdies beobachten, daß die Bacillenemulsionen selbst nicht hämolytisch wirkten, wohl aber der aus den Mikroorganismen in der angegebenen Weise hergestellte Alkoholextrakt.

Nach dem Mitgeteilten ist es nicht unwahrscheinlich, daß die durch Alkohol extrahierbaren Substanzen, die möglicherweise auch fettartiger Natur sind, an den durch thermostabile Körper bakterieller Provenienz verursachten Hämolysen beteiligt sind, ohne daß wir behaupten wollen, daß alle thermostabilen bakteriellen Hämolysine in die Kategorie gehören müßten ¹⁾.

III.

Atoxische Hämagglutinine in Samen von Papilionaceen.

Namentlich durch Kobert²⁾ und seine Schüler Stillmark³⁾, Hellin⁴⁾, Lau⁵⁾ und Elfstrand⁶⁾ wurden hämagglutinierende Sub-

1) Vermutlich werden sich aus zahlreichen Bakterienarten derartige hämolytische Stoffe gewinnen lassen. — Die Untersuchung in dieser Richtung führt der eine von uns (Raubitschek) weiter.

2) Lehrb. d. Intoxikationen. Stuttgart 1906. Bd. II. (Literatur.)

3) Arb. a. d. pharm. Inst. zu Dorpat. Stuttgart 1889.

4) Inaug.-Diss. Dorpat, 1891.

5) Inaug.-Diss. Rostock, 1901.

6) Görbersdorfer Veröffentlichungen. 1898.

stanzen aus Pflanzensamen beschrieben, nämlich Ricin, Abrin, Robin, Crotin. Diese Stoffe haben neben agglutinierenden zum Teil sehr intensiv toxische Eigenschaften, die schon länger bekannt sind. Wir haben verwandte Stoffe in einer Anzahl Papilionaceensamen nachweisen können, nämlich in den Samen von Bohnen (*Phaseolus*), Erbsen (*Pisum*), Linsen (*Ervum*) und Wicken (*Vicia*). Die Darstellung der wirksamen Extrakte geschah in folgender Weise.

Die Samen werden sorgfältig von ihren Schalen befreit und möglichst fein zerkleinert (durch Stoßen im Mörser oder Reiben in einer Handmühle). Das entstandene Pulver wird mit dem 5-fachen Volumen physiologischer Kochsalzlösung versetzt und 24 Stunden im Eiskasten belassen. Hierauf wurde koliert und filtriert, bis das Filtrat leicht getrübt oder opalisierend erschien.

Die Wirkung der Extrakte auf verschiedene Blutarten geht aus den nachstehenden Resultaten eines Titrationsversuches hervor.

Tabelle X.

Alle verwendeten Extrakte wurden völlig gleich hergestellt: 10 g Trockenmehl + 50,0 NaCl 24^h im Eiskasten, hierauf klar filtriert. Die Zahlen drücken die Verdünnung aus, in der die verwendeten Extrakte (je 1,0 ccm) die betreffende Blutart (je 0,5 ccm einer 5-proz. Aufschwemmung) eben noch deutlich (mikroskopisch) agglutinierten.

Blutart	Art des Extraktes			
	Bohnen	Erbsen	Linsen	Wicken
Mensch	800	40	20	20
Pferd	16 000	128	64	128
Kaninchen	8 000	1000	2000	200
Schaf	1 600	4	ø	ø
Taube	32 000	schwach	schwach	400
Karpfen	800	400	200	10
Frosch	400	80	ø	8

Aus den angeführten Zahlen ergibt sich nicht nur die starke Wirkung der Extrakte namentlich aus Bohnen, es zeigt sich auch, daß die verschiedenen Substanzen auf die einzelnen Blutarten ungleich wirken, was besonders beim Vergleich der Werte von Bohnen- und Linsenextrakten auf Kaninchen- und Taubenblut zu erkennen ist. Ein ähnliches Verhalten wurde auch bei den oben erwähnten schon bekannten Pflanzenagglutininen beobachtet.

Werden die Extrakte schwach angesäuert, so fällt ein Niederschlag aus, der nur wenig Agglutinine enthält; das Filtrat ist nach dem Neutralisieren nahezu ebenso wirksam wie der ursprüngliche Extrakt¹⁾. Durch Kochen werden die Agglutinine zerstört und es tritt Koagulation ein. Durch Alkohol werden die agglutinierenden Substanzen gefällt; nach dem Auflösen des Niederschlages (Filtrerrückstandes) agglutiniert die auf das frühere Volumen gebrachte Lösung nicht viel weniger stark wie vor der Fällung. Ebenso können die agglutinierenden Substanzen durch Ammonsulfat ausgesalzen werden. Versuche fraktionierter Aussalzung sind noch vorzunehmen. Die Agglutinine dialysieren nur schwer, aber leichter als Ricin (Dialysierhülsen von Schleicher und Schüll). Gegen Salzsäure und Sodalösung scheinen die Stoffe ziemlich resistent zu sein.

1) Mit einer derartig ausgefallenen Lösung wurden sämtliche Versuche angestellt.

Was die Natur dieser Hämagglutinine anlangt, so liegt es vorläufig und vor der beabsichtigten genaueren chemischen Untersuchung nahe, in ihnen Eiweißkörper zu vermuten. Bei den oben erwähnten, länger bekannten pflanzlichen Agglutininen Ricin und Abrin war die Frage nach der Eiweißnatur Gegenstand eifrigen Studiums, das allerdings noch keine Uebereinstimmung der Ansichten herbeigeführt hat. Nach den neuesten, sehr sorgfältigen Untersuchungen von Osborne, Mendel und Harris¹⁾ ist die Eiweißnatur des Ricins wohl recht wahrscheinlich geworden.

Ähnlich wie bei Ricin und Abrin eine präzipitierende Wirkung auf Serum nachweisbar ist²⁾, fanden wir, daß auch das Bohnenextrakt Serum fällt; die Reaktion wurde mit Pferde- und Hühnernormalserum vorgenommen.

Tabelle XL

Bohnenextrakt	Hühnerserum	Pferdeserum	
1,0	1,0		sehr starker Niederschlag
1,0	0,5		starker Niederschlag
1,0	0,1		deutliche Trübung
1,0		1,0	deutlich getrübt
1,0		0,5	deutl. Niederschlag
1,0		0,1	deutlich getrübt

Was bisher berichtet wurde, läßt vermuten, daß außer den schon bekannten pflanzlichen Agglutininen wahrscheinlich noch viele andere ohne Schwierigkeit zu finden sein werden.

Die von uns beschriebenen Substanzen unterscheiden sich in einem wesentlichen Punkte von den schon länger bekannten, namentlich von Kobert und seiner Schule studierten pflanzlichen Agglutininen. Unsere Extrakte haben zwar eine relativ sehr starke Wirkung auf die Blutkörperchen, sind aber, wie nach der Natur der verwendeten Substanzen nicht anders zu erwarten war, atoxisch; während die früher genannten agglutinierenden Pflanzenextrakte für die meisten gebräuchlichen Laboratoriumstiere stark giftig sind, wenn auch Crocin und namentlich Robin (vgl. Lau) nicht in so hohem Maße wie Ricin und Abrin.

Die Ergebnisse der Tierversuche waren folgende:

1) Maus	von mittlerem Gewicht	peritoneal	2,0	Bohnenextrakt überlebt ³⁾
"	"	"	2,0	"
"	"	"	2,0	" tot nach 48 ^h
"	"	"	1,0	" überlebt
"	"	"	0,1	"
2) Meerschweinchen ca. 300 g	"	"	2,0	"
3) Ratte ca. 100 g	"	"	2,0	"
4) Kaninchen ca. 1500 g	"	"	3,0	"

Wir haben vergebens versucht, durch Einträufeln der Extrakte in den Bindehautsack des Kaninchenauges analoge Reizerscheinungen hervorzurufen, wie sie bei Ricin und Abrin bekannt sind.

1) Americ. Journ. of Physiology. Vol. XIV. p. 259.

2) Stillmark, l. c. — Kraus, Zeitschr. f. Heilk. Bd. XXIII. 1902. — Landsteiner und Stankovič, Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLI. — Michaelis und Steindorf, Biochem. Zeitschr. Bd. II.

3) Auch ungewaschenes, nicht vom Serum befreites 5-proz. Mäuseblut wurde durch das verwendete Bohnenextrakt noch in einer Verdünnung von $\frac{1}{10000}$ agglutiniert.

Diese Resultate sind insofern von Interesse, als von Jakobi¹⁾, Cushman²⁾ und Müller³⁾ die Ansicht vertreten wird, daß die toxische und agglutinierende Wirkung des Ricins verschiedenen Substanzen angehört.

Aus den Versuchen mit den von uns verwendeten agglutinierenden Extrakten geht nun sicher hervor, daß es sehr kräftig wirkende Häm-agglutinine gibt, die einer toxischen Wirkung entbehren. Versuche der Immunisierung gegen die Agglutinine sind wir im Begriffe auszuführen.

Nachdruck verboten.

Versuche über Entwicklungshemmung von „säurefesten“ Mikroorganismen und von Staphylokokken durch Formaldehydgas im Reagenzglas.

[Aus der bakteriologischen Abteilung des Hygiene-Instituts der Universität Zürich (Abteilungs Vorstand: Prof. Dr. W. Silberschmidt).]

Von Dr. E. Anderes,

zur Zeit Assistenzarzt am Krankenhaus in Herisau.

Mit 2 Figuren.

Unter denjenigen Krankheiten, bei denen die Wohnungsdesinfektion die größte Rolle spielt, verdient die verbreitetste, die Tuberkulose, besondere Berücksichtigung. Spengler war der erste, der die Unwirksamkeit der Formaldehyddämpfe den Tuberkelbacillen gegenüber energisch betonte; seine Ansichten wurden von manchen Seiten unterstützt, von manchen aber kräftig bekämpft. Trotz der Wichtigkeit der Frage sind aber Versuche mit Tuberkelbacillen, voraussichtlich wegen der relativ umständlichen Untersuchungsmethoden, nicht in so großer Zahl vorgenommen worden, wie mit anderen Bakterienarten. In einer anderen Arbeit haben wir die Resultate über Zimmerdesinfektion mittels Autan und dem Flüggeschen Apparat veröffentlicht; an dieser Stelle sei nur darauf hingewiesen, daß das Autanverfahren eine sichere Abtötung von Tuberkelbacillen in feuchten Sputumballen nicht zu stande brachte, während die Resultate mit dem Breslauer Apparat günstiger ausfielen. Bei diesen Versuchen fanden auch säurefeste Bacillen, die morphologisch dem Tuberkelbacillus sehr nahe stehen, aber sich durch ihr rascheres Wachstum zu kulturellen Untersuchungen besser eignen, als Testobjekte Verwendung. Aus allen unseren Versuchen hat sich ergeben, daß die säurefesten Bacillen widerstandsfähiger sind als die anderen geprüften sporenfreien Bakterienarten, wie Diphtherie, Typhus, *Staphylococcus pyogenes aureus*, ja selbst resistenter als *Pyocyaneus*. Auch hier wurden mit dem Flüggeschen Apparat günstigere Resultate erzielt, als mit dem Autanverfahren.

Im Anschluß an die vor kurzem veröffentlichten Versuche von Martinotti haben wir neben den erwähnten Versuchen die Frage der Entwicklungshemmung verschiedener Mikroorganismen unter Einwirkung von Formaldehyddämpfen durch Untersuchungen im Reagenzglas etwas eingehender verfolgt, worüber hier in Kürze berichtet sei. Aus

1) Hofmeisters Beitr. Bd. I. p. 51.

2) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XLI.

3) Arch. f. exper. Pathol. u. Pharmakol. Bd. XLII.

den Untersuchungen von Martinotti scheint hervorzugehen, daß die Formaldehyddämpfe sich nur schlecht mit Luft vermengen, daß sie aber vor allem eine sehr geringe Tendenz zeigen, in die Tiefe zu gelangen. Wenn diese Annahme richtig ist, so lassen sich daraus die eigentümlichen Resultate, wie sie Martinotti bei seinen Versuchen erhalten hat, zum Teil erklären. Seine Untersuchungen machte er in der Weise, daß er in Reagenzröhrchen frische Agaroberflächenkulturen anlegte und diese Röhrchen dann durch Watte, auf welche er eine bestimmte Anzahl Tropfen einer Formalinlösung gebracht hatte, verschloß. Durch einen Gummipfropfen, der durch Paraffin noch völlig abgedichtet wurde, verschloß er das Reagenzglas luftdicht nach außen. Es ergab sich nun das eigentümliche Resultat, daß der überimpfte *Staphylococcus pyogenes aureus* im oberen Teil des Röhrchens völlig abgetötet wurde, im unteren Teil dagegen ziemlich üppig auswuchs. Martinotti sucht dies Ergebnis durch den verschiedenen Feuchtigkeitsgehalt des Nährbodens im oberen und unteren Teil zu erklären.

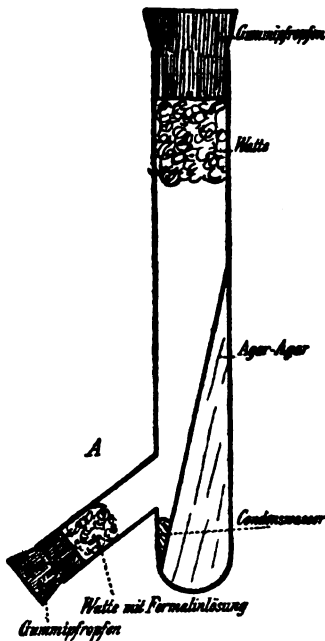


Fig. 1.

Um zu verhindern, daß die Formaldehyddämpfe sich nur im oberen Teil des Röhrchens ansammeln, habe ich für meine Versuche besondere Röhrchen konstruieren lassen. An ein gewöhnliches Reagenzglas wird unten ein Tubus A angegossen (siehe nebenstehende Fig. 1). Die Versuche werden in folgender Weise ausgeführt. Auf dem schräg erstarrten Agar wird eine frische Oberflächenkultur angelegt, dann das Röhrchen oben durch sterile Watte und einen Gummipfropfen verschlossen. Auf die entfettete Watte im seitlich angebrachten Tubus A wird eine bestimmte Menge Formalinlösung gebracht, die Watte etwas vorgestoßen und hierauf der Tubus ebenfalls durch einen Gummipfropfen luftdicht verschlossen. Zur Verwendung kam frische Scheringsche Formalinlösung; die Proz. resp. Prom. beziehen sich auf den Gehalt der Lösung an Formaldehydgas; es bedeutet z. B. 4-prom. Lösung 100-fach verdünntes Formalin. Die Röhrchen kamen dann in den Brutschrank und wurden während längerer Zeit beobachtet. An Bakterienarten kamen zur Verwendung *Staphylococcus pyogenes aureus*, die

2 säurefesten Bacillen Tobler II und Korn, welche letztere schon seit Jahren in der Sammlung des Züricher Hygiene-Instituts gezüchtet werden.

I. Versuch. 1. März 1907.

18 sterile Röhrchen werden mit je 5 ccm Agar gefüllt; dann werden je 6 Oberflächenkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus*, Tobler II und Korn angelegt.

Auf die im Ansatzrohr befindliche sterile Watte werden je 0, 2, 5, 10, 20 und 30 Tropfen gewöhnlichen 40-proz. Formalins gebracht.

Resultat:

Am 2. Tage sind alle Kontrollkulturen gewachsen.

Nach 14 Tagen. Kontrollkulturen üppig gewachsen, alle Röhrrchen aber, die Formalin enthalten, sind steril geblieben. Bei einer Menge von 2 Tropfen Formalin pro Röhrrchen sind somit weder Staphylokokken noch säurefeste Bacillen gewachsen.

II. Versuch. 7. März 1907.

In je 5 Röhrrchen wurden Oberflächenkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* und Tobler II angelegt.

Das Formalin wird 10-fach verdünnt, auf die sterile Watte im Ansatzrohr kommen je 0, 2, 5, 10 und 15 Tropfen 10-fach verdünnten, somit 4-proz. Formalins.

Resultat:

Am 2. Tage. Kontrollkulturen gewachsen, sonst alles steril.

Am 3. Tage. Tobler II mit 2 Tropfen 4-proz. Formalins in dem unterhalb der Einmündungsöffnung des Ansatzröhrrchens liegenden Teil gewachsen; alles andere steril.

Nach 14 Tagen. Kontrollkulturen üppig gewachsen, ebenso Tobler II mit 2 Tropfen 4-proz. Formalins im unterhalb der Einmündungsöffnung des Ansatzrohres liegenden Teil, im oberhalb gelegenen Teil ist auch hier kein Wachstum eingetreten. Alle übrigen Röhrrchen sind steril geblieben.

III. Versuch. 19. März 1907.

In je 5 Röhrrchen werden Agaroberflächenkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* und Tobler II angelegt.

Auf die Watte im Ansatzrohr kommen je 0, 10, 20, 30 und 40 Tropfen einer 100-fach verdünnten, somit 4-prom. Formalinlösung.

Resultat:

Nach 2 Tagen. Kontrollkulturen gewachsen.

Am 3. Tage ist Tobler II gewachsen und zwar unterhalb des Ansatzrohres üppiger als im oberen Teil. Sonst alles steril.

Nach 8 Tagen. Alle Röhrrchen mit *Staphylococcus* steril, alle Röhrrchen mit Tobler II gewachsen.

Nach 14 Tagen. Kontrollkulturen üppig gewachsen. *Staphylococcus* mit 10 Tropfen 4-prom. Formalinlösung unterhalb der Einmündung des Ansatzrohres gewachsen, Kondenswasser trüb. Uebrige Staphylokokkenröhrrchen steril. Tobler II in allen Röhrrchen gewachsen; es zeigt sich stets die gleiche Erscheinung, daß in dem Teil, der sich unterhalb der Einmündungsöffnung des Ansatzrohres befindet, viel üppigeres Wachstum eintritt, als im oberen Teil. Der Einmündungsöffnung gegenüber findet in der Regel, wenn nicht ganz üppiges Wachstum erfolgt, stets Abtötung statt. Es scheint das doch darauf hinzuweisen, daß die Formaldehyddämpfe sich mit Luft nur sehr schlecht und langsam vermischen und daß sie die Tendenz zeigen, in die Höhe zu steigen.

IV. Versuch. 5. April 1907.

In 7 Röhrrchen werden Oberflächenkulturen von *Staphylococcus pyogenes aureus* angelegt, in das Ansatzrohr derselben kommen je 0, 1, 2 und 5 Tropfen einer 4-prom., 5 Tropfen einer 8-prom. und 2 und 5 Tropfen einer 4-proz. Formalinlösung.

In je 4 Röhrrchen werden Agaroberflächenkulturen von Tobler II und Korn angelegt, in die Ansatzröhrrchen werden hier je 0, 1, 3 und 5 Tropfen einer 4-proz. Formalinlösung gebracht.

Resultat:

Am 2. Tage sind alle Kontrollkulturen gewachsen, ebenso *Staphylococcus* mit 1, 3 und 5 Tropfen einer 4-prom. Lösung. Ferner Korn mit 1 und 3 Tropfen einer 4-proz. Lösung. Alle übrigen Röhrchen zeigen noch kein Wachstum.

Nach 14 Tagen. Alle Kontrollkulturen sind üppig gewachsen, ferner:

Staphylococcus pyogenes aureus mit 1, 3 und 5 Tropfen 4-prom. und 5 Tropfen 8-prom. Lösung;

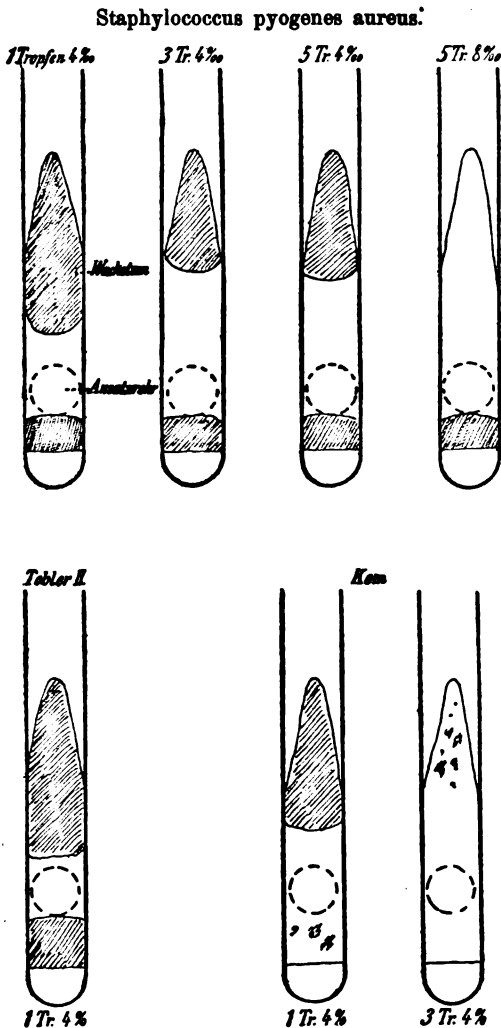
Korn mit 1 und 3 Tropfen 4-proz. Lösung,

Tobler mit 1 Tropfen 4-proz. Lösung.

Alle übrigen Röhrchen sind völlig steril.

Die Röhrchen, in denen Wachstum stattgefunden hat, zeigen das in Fig. 2 veranschaulichte Aussehen.

Korn macht hier beide Male eine Ausnahme, indem jeweils das Wachstum hauptsächlich oberhalb der Einmündungsöffnung des Ansatzrohres stattfand. Bei allen anderen Versuchen war es stets umgekehrt, so daß man trotzdem annehmen darf, daß die Formaldehyddämpfe viel eher die Tendenz haben zu steigen, als zu sinken. In gleicher Weise geht aber aus den Versuchen hervor, daß die Dämpfe sich ganz ungleichmäßig ausbreiten und sich jedenfalls nur schlecht mit Luft mischen. Die günstigsten Bedingungen in Bezug auf Desinfektion besitzt die Stelle, die gerade der Einmündungsöffnung des Ansatzrohres gegenüberliegt, denn dort müssen die Dämpfe, wenn sie sich überhaupt im Raume ausbreiten wollen, zuerst hingelangen, es wird somit dort auch noch die größte Konzentration vorhanden sein. Wir sehen denn auch, daß an diesem Orte bei allen Versuchen nie Wachstum stattgefunden hat, ausgenommen in den wenigen Röhrchen, die nur so wenig Formalin enthielten, daß gar keine Wirkung desselben zu konstatieren war und das Wachstum ebenso üppig stattfand, wie in den Kontrollkulturen.



In der folgenden Tabelle sollen die Wachstumsverhältnisse, wie sie sich aus den verschiedenen Versuchen ergeben haben, zusammengestellt werden.

Menge Formaldehyd pro Röhrchen.

Bakterien-art	Versuch	1 Tropfen 4-prom.	3 Tropfen 4-prom.	5 Tropfen 4-prom.	1 Tropfen 4-proz.	2 Tropfen 4-proz.	3 Tropfen 4-proz.	4 Tropfen 4-proz.	5 Tropfen 4-proz.	10 Tropfen 4-proz.	15 Tropfen 4-proz.	2 Tropfen 40-proz.	5 Tropfen 40-proz.	10 Tropfen 40-proz.	20 Tropfen 40-proz.	30 Tropfen 40-proz.	Kontrolle
Staphylo- coccus pyog. aureus	I. Vers.											0	0	0	0	0	+
	II. Vers.					0			0	0	0						+
	III. Vers.				+	0	0	0									+
	IV. Vers.	+	+	+	+	0			0								+
Tobler II	I. Vers.																
	II. Vers.					+				0		0	0	0	0	0	+
	III. Vers.				+	+		+		0	0						
	IV. Vers.				+			0	+	0							
Korn	I. Vers.												0	0	0	0	+
	II. Vers.				+		+		0								+

Um die Versuchsbedingungen möglichst mannigfaltig zu gestalten, wurde bei den einzelnen Versuchen das Formalin 10-fach, 50-fach und 100-fach verdünnt; indem dann die Anzahl der Tropfen entsprechend variiert wurde, konnte in den verschiedenen Röhrchen doch die gleiche Formaldehydkonzentration erzielt werden. So enthalten z. B. die Röhrchen mit 5 Tropfen 8-prom., 10 Tropfen 4-prom. und 1 Tropfen 4-proz. Lösung genau gleich viel Formaldehyd, der Einfachheit und der besseren Uebersichtlichkeit wegen sind aber in der obigen Tabelle die Resultate in solchen Fällen in ein und derselben Kolonne untergebracht worden.

Die Tabelle zeigt ein fast vollkommen übereinstimmendes Resultat aller Versuche. Aus ihr geht ganz deutlich hervor, daß die säurefesten Bacillen Formaldehyddämpfen gegenüber resistenter sind als andere Bakterienarten, speziell als *Staphylococcus pyogenes aureus*. Dieser zeigte bei den obigen Reagenzglasversuchen noch Wachstum mit 1 Tropfen 10-fach verdünnter Formalinlösung, kein Wachstum mehr mit 2 Tropfen. Tobler II und Korn aber entwickelten sich noch bei einem Zusatz von 3 und 4 Tropfen 4-proz. Lösung, nicht mehr bei 5 Tropfen pro Röhrchen. Berechnet man die Formaldehydmenge, so ergibt sich für *Staphylococcus pyogenes aureus* Entwicklungshemmung bei 2 g auf 10000 ccm, für die säurefesten Bacillen bei 5 g auf 10000 ccm; nach Messungen betrug der Rauminhalt eines fertig beschickten Versuchsröhrchens ca. 20 ccm. Die obigen Zahlen haben aber keinen absoluten Wert, da die verdunstete Menge Formalin nicht genau bestimmt worden ist.

In ganz gleicher Weise, wie oben beschrieben, wurde auch ein Versuch mit Tuberkelbacillenkulturen ausgeführt, der anfänglich genau dieselben Resultate lieferte, wie die säurefesten Bacillen. Durch eine Unregelmäßigkeit in der Brutschranktemperatur sind dann leider diese Kulturen zu früh abgetötet worden, um ein definitives Resultat zu erhalten, weshalb ich auch von einer genauen Mitteilung dieses Versuches absehen muß. Erwähnt sei immerhin, daß ein Serumröhrchen mit 5 Tropfen 8-prom. Lösung üppiges Wachstum der Tuberkelbacillen oberhalb der Einmündungsröhrchen zeigte.

Es ergibt sich aber sowohl aus diesen, wie aus den anderswo veröffentlichten Wohnungsdesinfektionsversuchen, daß die säurefesten Bacillen und auch der Tuberkelbacillus Formaldehyddämpfen gegenüber eine größere Resistenz besitzen als andere Bakterienarten, daß sie aber einer

längeren Einwirkung konzentrierter Dämpfe doch auch erliegen. Fasse ich das Resultat meiner Versuche kurz zusammen, so ergeben sich ganz ähnliche Schlußsätze, wie sie Piatkowsky am Ende seiner Arbeit wiedergibt.

1) Die Gruppe der säurefesten Bacillen ist in Bezug auf das Einwirken der verdünnten Formaldehydlösungen weniger empfindlich als andere Bakterienarten.

2) Bei längerer Einwirkung und stärkerer Konzentration wirken die Formaldehyddämpfe auch auf die säurefesten und Tuberkelbacillen entwicklungshemmend und abtötend.

Für die Desinfektionspraxis ergibt sich hieraus, daß speziell bei Tuberkulose die Menge Formaldehydgas und die Dauer der Desinfektion eher erhöht, unter keinen Umständen aber vermindert werden dürfen gegenüber den bis jetzt anerkannten Vorschriften.

Literatur.

- 1) Martinotti, Untersuchungen über die Wirkungen des Formaldehyds auf die Entwicklung des Tuberkelbacillus und des Staphylococcus pyogenes aureus. (Centralbl. f. Bakt. etc. Abt. I. Orig. Bd. XLIII. Heft 3.)
- 2) Piatkowsky, Ueber eine neue Eigenschaft der Tuberkel- und anderen säurefesten Bacillen. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. No. 24.)
- 3) Spengler, Tuberkelbacillenzüchtung aus Bakteriengemischen und Formaldehyddesinfektion. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.)
- 4) Flüge, Entgegnung auf Spenglers Arbeit. (Zeitschr. f. Hyg. Bd. XLII.)
- 5) Weber und Taute, Zur Frage der Umwandlung der Tuberkelbacillen im Kaltblüterorganismus. (Deutsche med. Wochenschr. 1904. Nr. 28.)
- 6) Werner, Zur Kritik der Formaldehyddesinfektion. (Arch. f. Hyg. Bd. L.)
- 7) Anderes, Vergleichende Versuche über Wohnungsdesinfektion mittelst Formaldehyddämpfen. [Diss.] Zürich 1907.

Die Redaktion des „Centralblatts für Bakteriologie und Parasitenkunde“ richtet an die Herren Mitarbeiter die ergebene Bitte, etwaige Wünsche um Lieferung von besonderen Abdrücken ihrer Aufsätze entweder bei der Einsendung der Abhandlungen an die Redaktion auf das Manuskript schreiben zu wollen oder spätestens nach Empfang der ersten Korrekturabzüge direkt an den Verleger, Herrn Gustav Fischer in Jena, gelangen zu lassen.

Inhalt.

Anderes, E., Versuche über Entwicklungshemmung von „säurefesten“ Mikroorganismen und von Staphylokokken durch Formaldehydgas im Reagenzglas, p. 667.

Bertarelli, E., Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf den Menschen und Wiederimpfung der menschlichen Krankheit auf die Rinder, p. 628.

Burk, Arnold, Untersuchungen über Bakterien der Coli-Gruppe, p. 577.

Eisenberg, Philipp, Ueber neue Wege und Probleme in der Immunitätslehre. II., p. 638.

Hosemann, Der Fraenkelsche Gasbacillus als Erreger lokaler Hautnekrose ohne Gasbildung im Tierversuch, p. 619.

Landsteiner, Karl und Raubitschek, Hugo, Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination, p. 660.

Loewit, M., Ueber intranukleäre Körper der Lymphocyten und über geißelführende Elemente bei akuter lymphatischer Leukämie, p. 600.

Lutz, Adolph und Splendore, Alfonso, Ueber eine bei Menschen und Ratten beobachtete Mykose, p. 631.

Inhaltsverzeichnis.

I. Verzeichnis der in Band XLV enthaltenen Arbeiten.

- Almquist, E.**, Neue Tatsachen zur Biologie der Typhusbakterie. 491
- Anderes, E.**, Versuche über Entwicklungshemmung von „säurefesten“ Mikroorganismen und von Staphylokokken durch Formaldehydglas im Reagenzglas. 667
- Bächer, St.**, Bakteriolytisches Serum gegen Vibrien ohne bakteriotrope Wirkung. 166
- Bayer, Gustav**, Zur Technik der Cytotoxinuntersuchung. 1
- Bermbach, P.**, Ueber Pyocyanase. 355
- Bertarelli, E.**, Können die Stoffe des Tuberkels von den Antikörpern des Tuberkelbacillus unabhängige Antikörper erzeugen? 62
- , Uebertragung der Maul- und Klauenseuche auf den Menschen und Wiederimpfung der menschlichen Krankheit auf die Rinder. 628
- Burk, Arnold**, Untersuchungen über Bakterien der Coli-Gruppe. 577
- Canfora, Michele**, Ueber die Latenz der Tetanussporen im tierischen Organismus. 495
- v. Deekenbach, Constantin**, Zur Frage über die Aetiologie der Pellagra. 507
- Dieterlen, F.**, Ueber das Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktes. 385
- Doerr, R. und Raubitschek, H.**, Ueber ein neues Desinfektionsverfahren mit Formalin auf kaltem Wege. 77. 179
- Donath, Julius und Landsteiner, Karl**, Weitere Beobachtungen über Hämoglobulinurie. 205
- Ehrlich, Hans**, siehe **Landsteiner, Karl**.
- Eisenberg, Philipp**, Ueber neue Wege und neue Probleme in der Immunitätslehre. I. Teil. Ueber die Anpassung der Bakterien an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus. II. Teil. Versuch einer Infektionstheorie. 44. 134. 638
- v. Elsler, M.**, Ueber Einfluß der Galle, Glykoxide und Farbstoffe (Benzindervative) auf das Lyssavirus. 71
- Ernst, Wilhelm**, Die Entstehung der Botryomycesrasen aus der Staphylokokkenform des Erregers. 121
- De Fañls, C.**, Einfluß der Toxine des Pestbacillus auf die Kreislauforgane. 388
- Fellmer, T.**, Veränderungen an Nagana-Trypanosomen durch Igelpassage. 512
- Fermi, Claudio**, Immunisierende Wirkung der normalen Hirnsubstanz verschiedener Tiere und immunisierende, lyssizide und bakterizide Wirkung des Cholesterins und des Lecithins. 67
- Friedberger, E. und Moreschi, C.**, Ueber Hämolyse beschleunigende Immunsustanzen. 346
- und **Pinczower, E.**, Ueber die Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper. 352
- Fuhrmann, O.**, Bekannte und neue Arten und Genera von Vogeltänien. 516
- Galli-Valerio, B. und Salomon, Vera**, Die syphilitische Keratitis des Kaninchens. Experimentelle Untersuchungen. 37
- Granström-Woskoboinikow**, siehe **Levy, E.**
- Hansen, Emil Chr.**, Ueber die tödende Wirkung des Aethylalkohols auf Bakterien und Hefen. 466
- Hinterberger, A.**, Bemerkungen zu der Frage, ob Bacillus anthracis Geißeln bildet und Hüllen hat. 108
- Hosemann, Der**, Fraenkelsche Gasbacillus als Erreger lokaler Hautnekrose ohne Gasbildung im Tierversuch. 619
- de Josselin de Jong, R.**, Ein Fall von Meningitis gonorrhoea. 501
- Kentzler, Julius**, Beitrag zur Hämolysebildung der Typhusbacillen. 536
- Klimenko, W. N.**, Bacterium mariense (n. sp.), ein neuer Alkalibildner. 481
- Klodnitzky, N. N.**, Ueber die Vermehrung der Rückfallspirochäten im Körper der Wanzen. Vorläufige Mitteilung. 126
- Kraus R. und Russ, V. K.**, Ueber Toxine und Antitoxine des Choleravibrio. Experimentelle Grundlage einer antitoxischen Choleratherapie. 258. 332. 417
- Kühl, Hugo**, Ueber die Empfindlichkeit einiger in der Bakteriologie verwendeter Reagentien. 94
- Kutscher, K.**, Ein Beitrag zur Züchtung des Meningococcus. 286
- Landsteiner, Karl**, siehe **Donath, Julius**.
- und **Ehrlich, Hans**, Ueber bakterizide Wirkungen von Lipoiden und ihre Beziehung zur Komplementwirkung. 247
- und **Raubitschek, Hugo**, Beobachtungen über Hämolyse und Hämagglutination. 660
- Levy, E. und Granström-Woskoboinikow**, Ueber die Infektion begünstigende, aggrasinartige Wirkung der Filtrate junger Bouillonkulturen. 360

- Loewit, M.**, Ueber intranukleäre Körper der Lymphocyten und über geißelführende Elemente bei akuter lymphatischer Leukämie. 600
- van Loghem, J. J.**, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunsera. Ein Beitrag zur Frage der Agglutinationshemmung und zur Kenntnis des Typhusdiagnostikums nach Ficker. 539
- Luckseh, Franz**, Ueber aktive Immunisierung des Menschen gegen bacilläre Dysenterie. 365
- Lutz, Adolph und Splendore, Alfonso**, Ueber eine bei Menschen und Ratten beobachtete Mykose. Ein Beitrag zur Kenntnis der sogenannten Sporotrichosen. 631
- Manwaring, Wilfred H.**, Changes in the third serum component due to exposure to corpuscles. 55
- Markl**, Ueber die Antikörper des Meningococcus. II. Mitteilung. 175
- Moreschi, C.** siehe **Friedberger, E.**
- Moriya, Gozo**, Impftuberkulose der Kaltblüter. 294
- Mrázek, Al.**, Sterilitätserscheinungen bei Cestoden. 234
- Nedrigaloff und Ostrjanin**, Ueber die Immunisation gegen das Diphtherietoxin. 558
- Ostrjanin** siehe **Nedrigaloff**.
- Paus, Nikolai N.**, Ueber das Wachstum der Typhus- und Colibacillen auf Nährböden, denen verschiedene organische Säuren zugesetzt sind. 81
- Peabody, F. und Pratt, J.**, Ueber den Wert von Malachitgrünährböden zur Differenzierung von Typhus- und Colibacillen. Beschreibung einer neuen Methode zur Isolierung von Typhusbacillen aus dem Stuhl. 550
- Pettersson, Alfred**, Weitere Untersuchungen über die Bedeutung der Leukocyten für die Immunität. 160. 235
- Pinczower, E.** siehe **Friedberger, E.**
- Pitt, W.**, Beiträge zum regelmäßigen Vorkommen der Rotlaufbacillen auf der Darmschleimhaut und in den Tonsillen gesunder Schweine. 33. 111
- Pratt, J.** siehe **Peabody, F.**
- Raubitschek, Hugo**, siehe **Doerr, R.**
- siehe **Landsteiner, Karl.**
- Reitz, Adolf**, Untersuchungen mit photodynamischen Stoffen (photobiologischen Sensibilisatoren). 270. 374. 451
- Rodhain, J.**, Note sur quelques trypanosomes de grenouilles et de poissons dans l'Ubangi. 129
- Rosenthal, Werner**, Filtrierapparat zur Gewinnung keimfreier Filtrate und insbesondere zur Erprobung verschiedener Filtersubstanzen. 563
- Russ, V. K.** siehe **Kraus, R.**
- Salomon Vera**, siehe **Galli-Valerio, B.**
- Schereschewsky, J.**, Das Verhalten der *Spirochaete pallida* (Schaudinn) bei der Giemsa-Färbung. 91
- Schiffmann, Josef**, Zur Histologie der Hühnerpest. 393
- Siegel, J.**, Experimentelle Studien über Syphilis. II. Der Erreger der Syphilis. 218. 301. 404
- Sineff, A.**, Ein vereinfachter Thermostat. 191
- Splendore, Alfonso** siehe **Lutz, Adolph**.
- Stigell, R.**, Ueber das spezifische Gewicht einiger Bakterien. 487
- Ueber die Fortbewegungsgeschwindigkeit und Bewegungskurven einiger Bakterien. 289
- Troester, C.**, Eine neue Mikroskopierlampe. 574
- Trolli-Petersson, Gerda**, Studium über das Wachstum des *Bacterium typhosum* und des *Vibrio cholerae* in sterilisierten und nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern. 5
- Ueke, A.**, Trichomonaden und Megastomen im Menschendarm. 231
- Veszprémi, D.**, Züchtungs- und Tierversuche mit *Bacillus fusiformis*, *Spirochaete gracilis* und *Cladothrix putridigenes*. Beiträge zur Bakteriologie und Histogenese der experimentellen gangränösen Entzündungen. [Schluß.] 15
- Vourloud**, Action de quelques bactéries sur les hydrates de carbon et le lait tournesolé. 97. 193. 575
- Vryburg, A.**, Zwei neue Nematoden im Darmkanal des Rindes in Deli-Sumatra. 321
- Woolley, Paul, G.**, Subcutaneous fibrogranulomata in cattle. 214
- Yakimoff, W. L.**, Zur Behandlung der Dourine. Therapeutische Versuche mit Trypanrot an Laboratoriumstieren. 437
- Zebrowski, Boleslas**, Sur les rapports entre la sensibilisatrice hémolytique et le précipitinogène. 49

II. Namen- und Sachverzeichnis.

- Abwehrkräfte des infizierten Organismus, Anpassung der Bakterien an dieselben. 44. 134. 642
- Acanthocirrus macrorostratus* n. sp., Anatomie. 527
- Actinomyces*, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 452
- , photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid. 457
- Adonit, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Aethylalkohol s. Alkohol, Aethyl-.
- Affen, Impfversuche mit Syphilis. 316. 404
- Agglutination, Häm-, Beobachtungen. 660
- Agglutinationshemmung. 539
- Agglutinationsversuche mit Typhusimmunis. 539. 541
- Agglutinine, Häm-, aus Papilionaceensamen. 664
- Aggressivartige Wirkung von Bouillonkulturfiltraten. 360
- Aggressinlehre. 640
- Agriostomum Vryburgi* n. sp., Entwicklung. 328
- — —, Infektionsversuche. 329
- — —, Morphologie. 328
- — —, Vorkommen im Darmkanal der Rinder. 327
- Akridingruppe, photodynamische Wirkung. 272
- Alkali, Bildung durch *Bact. mariense*. 483
- Alkohol, Aethyl-, Wirkung auf *Bact. coli*. 472
- — —, Wirkung auf *Bact. Pasteurianum*. 73
- — —, Wirkung auf Bakterien. 466. 469
- — —, Wirkung auf Hefen. 475
- Amidosäuren, Wirkung auf das Wachstum von *Bac. typhi*. 88
- , Wirkung auf das Wachstum von *Coli-bacillen*. 88
- Amoebotaenia brevicollis* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 520
- *vanelli* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 520
- Amygdalin, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Anomotaenia acollum* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 518
- *brasiliensis* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 519
- *hirundina* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 518
- *macracanthoides* n. sp., Anatomie. 519
- *mutabilis* (Rud.), Anatomie. 517
- Anthraxengruppe, photodynamische Wirkung. 271
- Anthus pratensis*, Wirt von *Acanthocirrus macrorostratus*. 527
- Antigene, Thermoresistenz der an die A. gebundenen Antikörper. 352
- Antikörper des Meningococcus. 175
- , Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen. 352
- Antitoxine des Cholera vibrio. 258. 332. 417
- Apparat, Filtrier-, zur Gewinnung keimfreier Filtrate. 563
- Arabinose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Atoxyl, Wirkung auf das Wutvirus. 75
- Bacillus acidi lactici*, spezifisches Gewicht. 489
- *anthracis*, Geißelbildung. 108
- —, Hüllen. 108
- —, spezifisches Gewicht. 489
- —, Wirkung von Cholesterin. 70
- —, Wirkung von Lecithin. 70
- *botulinus*, Wirkung auf Kohlehydrate. 198
- —, Wirkung auf Lackmusmilch. 199
- , Butter-, spezifisches Gewicht. 489
- *butyricus*, Bewegungsgeschwindigkeit. 290
- —, Bewegungskurven. 292
- —, spezifisches Gewicht. 489
- *coli* s. a. *Bacterium coli*.
- —, Wachstum auf Nährböden mit Zusatz verschiedener organischer Säuren. 81
- — *communis*, spezifisches Gewicht. 490
- *diphtheriae*, s. a. *Corynebacterium diphtheriae*.
- —, Wirkung von Cholesterin. 70
- —, Wirkung von Lecithin. 70
- *dysenteriae* *Flatau*, Wirkung auf Kohlehydrate. 104
- — —, Wirkung auf Lackmusmilch. 105
- — *Shiga*, Wirkung auf Kohlehydrate. 104
- — —, Wirkung auf Lackmusmilch. 105
- *dysentericus*, spezifisches Gewicht. 489
- *enteritidis*, spezifisches Gewicht. 489
- *fusiformis*, Züchtungs- und Tierversuche. 15
- , Gas-, Fraenkelscher s. a. *Bac. phlegmonis emphysematosae*.
- —, Fraenkelscher, Erreger von Hautnekrose ohne Gasbildung. 619
- —, Fraenkelscher, kulturelle Eigenschaften. 620
- , Gawford-, spezifisches Gewicht. 489
- *humosus*, spezifisches Gewicht. 490
- *megatherium*, Bewegungsgeschwindigkeit. 291
- —, Bewegungskurven. 293
- —, spezifisches Gewicht. 489
- *mesentericus fuscus*, Bewegungsgeschwindigkeit. 290
- — —, Bewegungskurven. 292
- — —, spezifisches Gewicht. 489
- *ozanae*, Wirkung auf Kohlehydrate. 196
- —, Wirkung auf Lackmusmilch. 197
- *paratyphi*, spezifisches Gewicht. 489
- —, Wirkung auf Kohlehydrate. 105
- —, Wirkung auf Lackmusmilch. 106
- —, Wirkung von Cholesterin. 70
- —, Wirkung von Lecithin. 70
- *pestis*, Wirkung auf Kohlehydrate. 195
- —, Wirkung auf Lackmusmilch. 195

Bacillus pestis, Wirkung von dessen Toxine auf die Kreislaufsorgane.	388
— phlegmonis emphysematosae s. a. Gas-bacillus Fraenkel.	
— — —, kulturelle Eigenschaften.	620
— pneumoniae, Wirkung auf Kohlehydrate.	195
— — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	196
— prodigosus s. a. Bacterium prodigosum.	
— — —, photodynamische Wirkung von Fluorescein.	451
— — —, spezifisches Gewicht.	489
— — als Testbakterium für Filterprüfungen.	569
— pseudo-pestis, Wirkung auf Kohlehydrate.	195
— — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	195
— pseudotuberculosis, spezifisches Gewicht.	489
— — rodentium, Wirkung auf Kohlehydrate.	194
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	194
— pyocyaneus, aggressivartige Wirkung von Bouillonkulturfiltraten.	360
— — —, Aufwärtswandern im Verdauungskanal.	385
— — —, Bewegungsgeschwindigkeit.	290
— — —, Bewegungskurven.	292
— — —, hämolytische Stoffe aus demselben.	663
— — —, spezifisches Gewicht der vegetativen Zellen.	490
— — als Testbakterium für Filterprüfungen.	569
— — —, Wirkung auf Kohlehydrate.	198
— — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	198
— rhinoscleromatis, Wirkung auf Kohlehydrate.	196
— — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	196
— — —, Rotlauf-, Vorkommen auf der Darm-schleimhaut gesunder Schweine.	33. 111
— — —, Vorkommen in den Tonsillen gesunder Schweine.	116
— — —, Schweinerotlauf-, als Testbakterium für Filterprüfungen.	569
— subtilis, Bewegungsgeschwindigkeit.	290
— — —, Bewegungskurven.	291
— — —, spezifisches Gewicht.	489
— — —, Wirkung von Cholesterin.	70
— — —, Wirkung von Lecithin.	70
— suipestifer, spezifisches Gewicht.	489
— tetani, Latenz der Sporen im Organismus.	495
— tuberculosis, spezifisches Gewicht.	489
— — —, Wirkung von Formaldehyd.	671
— typhi s. a. Bacterium typhosum.	
— — —, Agglutinationsversuche.	541
— — —, Bewegungsgeschwindigkeit.	291
— — —, Bewegungskurven.	292
— — —, Biologie.	491
— — —, Differenzierung mittels Malachitgrünnährböden gegenüber Bacterium coli.	550
— — —, Hämolsinbildung.	536
— — —, Inagglutinabilität.	491
— — —, Isolierung aus dem Stuhle.	556

Bacillus typhi, Konidienbildung.	492
— — —, photodynamische Wirkung von Eosin.	457. 461
— — —, photodynamische Wirkung von Fluorescein.	375
— — —, photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid.	454
— — —, spezifisches Gewicht.	490
— — —, Wachstum auf Nährböden mit Zusatz verschiedener organischer Säuren.	81
— — —, Wirkung auf Kohlehydrate.	107
— — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	108
— — —, Wirkung von Amidosäuren auf dessen Wachstum.	88
— — —, Wirkungen anorganischer Säuren auf dessen Wachstum.	88
— — —, Wirkung von Chinasäure auf dessen Wachstum.	88
— — —, Wirkung von Cholesterin.	70
— — —, Wirkung von Dikarbonsäuren auf dessen Wachstum.	86
— — —, Wirkung von Fettsäuren auf dessen Wachstum.	85
— — —, Wirkung von Glycerinsäure auf dessen Wachstum.	88
— — —, Wirkung von Lecithin.	70
— — —, Wirkung von Mandelsäure auf dessen Wachstum.	87
— — —, Wirkung von Oxybernsteinsäure auf dessen Wachstum.	87
— — —, Wirkung von Oxyssäuren auf dessen Wachstum.	85
— — —, Wirkung von Phosphorsäure auf dessen Wachstum.	88
— — —, Wirkung von Salpetersäure auf dessen Wachstum.	89
— — —, Wirkung von Salzsäure auf dessen Wachstum.	89
— — —, Wirkung von Schwefelsäure auf dessen Wachstum.	89
— — —, Wirkung von Zitronensäure auf dessen Wachstum.	87
— — — murium, Wirkung auf Kohlehydrate.	106
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	107
Bacterium acidi lactici Hüppe, Wirkung auf Kohlehydrate.	103
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	103
— alcaligenes Petruschky, Wirkung auf Kohlehydrate.	104
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	104
— avicidum, s. a. Bacterium cholerae gallinarum.	
— — — — —, Wirkung auf Kohlehydrate.	194
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	194
— cholerae gallinarum s. Bacterium avicidum.	
— coli s. a. Bacillus coli.	
— — —, Differenzierung mittels Malachitgrünnährböden gegenüber Bac. typhi.	550
— — — — —, Escherich, Wirkung auf Kohlehydrate.	99
— — — — —, Wirkung auf Lackmusmilch.	102
— — — — —, Wirkung von Alkohol.	472
— — commune, Eigenschaften.	579

- Bacterium coli-Gruppe, Agglutination der einzelnen Stämme mittels Coli-Kaninchenserum. 595
 — — —, Agglutination der einzelnen Stämme mittels menschlicher Serum. 587
 — — —, Einteilung. 577
 — — —, Kulturunterschiede der einzelnen Stämme. 578
 — fluorescens non liquefaciens als Testbakterium für Filterprüfungen. 569
 — Hogcholera, Wirkung auf Kohlehydrate. 193
 — — —, Wirkung auf Lackmusmilch. 193
 — mariense n. sp., Alkalibildung. 483
 — — —, kulturelle Eigenschaften. 481
 — — —, Morphologie. 481
 — — —, Pathogenität. 483
 — Pasteurianum, Wirkung von Alkohol. 473
 — prodigiosum s. a. Bacillus prodigiosus.
 — psittacosis Nocard, Wirkung auf Kohlehydrate. 103
 — — —, Wirkung auf Lackmusmilch. 103
 — typhi s. a. Bacillus typhi.
 — — — ditrophicum, Konidienbildung. 492
 — typhosum s. a. Bacillus typhi.
 — — —, Wachstum in nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern. 8
 — — —, Wachstum in sterilisierten Abfallstoffen und Abwässern. 5. 8.
 — vulgare, Wirkung auf Kohlehydrate. 197
 — — —, Wirkung auf Lackmusmilch. 197
 Bakterien, s. a. Mikroorganismen, Pilze etc.
 —, aggressinartige Wirkung von Bouillonkulturfiltraten. 360
 —, Anpassung an die Abwehrkräfte des infizierten Organismus. 44. 134. 642
 —, Aufwärtswandern im Verdauungskanal und seine Bedeutung für die Infektion des Respirationstraktes. 385
 — der Bacterium coli-Gruppe, Einteilung. 577
 —, Einfluß organischer Säuren auf deren Wachstum. 81
 —, Fortbewegungsgeschwindigkeit. 289
 —, hämolytische Stoffe aus denselben. 663
 —, Kapselbildung. 642
 —, Konidienbildung. 492
 —, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 375. 451
 —, säurefeste, Wirkung von Formaldehyd. 667
 —, spezifisches Gewicht. 487
 —, Test-, für Filterprüfungen, Nachweis. 568
 — — —, Mischung zur Prüfung von Filtersubstanzen. 568
 —, Vorkommen in subkutanen Fibrogranulomen. 214
 —, Wirkung auf Kohlehydraten. 97. 193
 —, Wirkung auf Lackmusmilch. 97. 193
 —, Wirkung von Aethylalkohol. 466. 469
 —, Wirkung von Cholesterin. 70
 —, Wirkung von Formalin. 180
 —, Wirkung von Lecithin. 70
 —, Wirkung von Lipoiden. 247
 Bakterien, Wirkung von photodynamischen Stoffen. 273. 374. 451
 Belonopterus cayennense, Wirt von Monopylidium cayennense. 529
 — — —, Wirt von Monopylidium secundum. 530
 Benzidinderivate, Wirkung auf das Wutvirus. 75
 Beutelratte s. a. Didelphys azarae.
 —, Mykose. 633
 —, Sporothricose. 633
 Bewegungsgeschwindigkeit einiger Bakterien. 289
 Bewegungskurven einiger Bakterien. 289
 Blutkörperchen, Schaf-, Wirkung auf die dritte Ziegenserumkomponente. 55
 Botryococcus ascoformans, Untersuchung der Rasen. 121
 Botryomycesrasen, Kapselbildung. 121
 Botryomykose, Entstehung der Botryomycesrasen aus der Staphylokokkenform des Erregers. 121
 Bufo vulgaris, Impftuberkulose. 294
 Butorides virescens, Wirt von Tetracis-dicotyla macroscolecina n. sp. 535
 Caprimulgusarten, Wirte von Choanotaenia megacantha. 517
 Cestoden, Sterilitätserscheinungen. 234
 Charadrius nubicus, Wirt von Amoebotaenia brevicollis. 520
 Chinasäure, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 88
 —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 88
 Chinolingrouppe, photodynamische Wirkung. 273
 Choanotaenia megacantha (Rud.), Anatomie. 517
 Cholera, Serumtherapie. 342. 417
 Cholesterin, bakterizide Wirkung. 70
 —, Wirkung auf das Wutvirus. 69
 Cladothrix putridogenes, Züchtungs- und Tierversuche. 15. 21
 Clivicola riparia (Linn.), Wirt von Anomotaenia hirundina. 518
 Colibacillen s. a. Bacillus coli.
 —, Wachstum auf Nährböden mit Zusatz verschiedener organischer Säuren. 81
 —, Wirkung von Amidosäuren auf deren Wachstum. 88
 —, Wirkung von anorganischen Säuren auf deren Wachstum. 88
 —, Wirkung von Chinasäure auf deren Wachstum. 88
 —, Wirkung von Dikarbonsäuren auf deren Wachstum. 86
 —, Wirkung von Fettsäuren auf deren Wachstum. 85
 —, Wirkung von Glycerinsäure auf deren Wachstum. 88
 —, Wirkung von Oxybernsteinsäure auf deren Wachstum. 87
 —, Wirkung von Oxysäure auf deren Wachstum. 85
 —, Wirkung von Phosphorsäure auf deren Wachstum. 88

- Colibacillen, Wirkung von Salpetersäure auf deren Wachstum. 89
- , Wirkung von Salzsäure auf deren Wachstum. 89
- , Wirkung von Schwefelsäure auf deren Wachstum. 89
- , Wirkung von Zitronensäure auf deren Wachstum. 87
- Corynebacterium diphtheriae*, s. a. *Bacillus diphtheriae*.
- —, photodynamische Wirkung von Eosin. 460. 462
- Corynebacterium diphtheriae*, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 380
- —, photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid. 454
- Crotophaga ani*, Wirt von *Anomotaenia acollum* und *A. mutabilis*. 517
- Cyclorchida omalancristota* (Wedl.), Anatomie. 525
- Cytorrhcytes luis*, Erreger der Syphilis. 310.
- —, Nachweis. 312. 404
- Cytotoxinuntersuchung, Technik. 1
- Darm, menschlicher, Vorkommen von Trichomonaden und Megastomen. 231
- von Rindern in Deli-Sumatra, Vorkommen von Nematoden. 321
- Darmschleimhaut gesunder Schweine, Vorkommen von Rotlaufbacillen. 33. 111
- Desinfektion mittels Formalin auf kaltem Wege. 77. 179
- Dextrin, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Diagnostikum, Typhus-, nach Ficker, Untersuchungen. 539. 544
- Dichlorobenzidin, Wirkung auf das Wutvirus. 75
- Didelphys azarae*, Mykose. 633
- —, Sporothrichose. 633
- Dikarbonsäuren, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 86
- Dikarbonsäure, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 86
- Dilepis limosa* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 516
- Diphtherietoxin, Immunisierung gegen dasselbe. 558
- Dourine, Behandlung mit Trypanrot. 437
- Dulcit, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Dysenterie, bacilläre, akute Immunisierung. 365
- Endotoxinlehre. 649
- Eosin, photodynamische Wirkung auf *Bac. typhi*. 457. 461
- , photodynamische Wirkung auf *Corynebacterium diphtheriae*. 460. 462
- , photodynamische Wirkung auf *Micrococcus rosaceus*. 462
- , photodynamische Wirkung auf *Sarcina flava*. 462
- Erythrit, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Faeces, Isolierung von Typhusbacillen aus denselben. 556
- Färbung, Giemsa-, Verhalten der *Spirochaete pallida*. 91
- Farbstoffe, Wirkung auf das Wutvirus. 75
- Fettsäuren, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 85
- , Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 85
- Fibrogranulome, subkutane, bei Rindvieh, Untersuchung. 214
- Filtersubstanzen, Prüfung auf Keimdichtigkeit. 563. 568
- Filtrate, keimfreie, Filtrierapparat zur Gewinnung derselben. 563
- Filtrierapparat, zur Gewinnung keimfreier Filtrate. 563
- Fische in Ubangi, Wirte von Trypanosomen. 130
- Fluorescein, Darstellung. 284. 374
- , photodynamische Wirkung auf Actinomyces. 452
- , photodynamische Wirkung auf *Bacillus prodigiosus*. 451
- , photodynamische Wirkung auf *Bacillus typhi*. 376
- , photodynamische Wirkung auf Bakterien. 375. 451
- , photodynamische Wirkung auf *Corynebacterium diphtheriae*. 380
- , photodynamische Wirkung auf *Micrococcus rosaceus*. 452
- , photodynamische Wirkung auf *Micrococcus sulfureus*. 452
- , photodynamische Wirkung auf *Saccharomyces rosaceus*. 452
- , photodynamische Wirkung auf *Sarcina flava*. 383
- Fluoresceinanilid, Darstellung. 453
- , photodynamische Wirkung auf Actinomyces. 457
- , photodynamische Wirkung auf *Bacillus typhi*. 454
- , photodynamische Wirkung auf *Corynebacterium diphtheriae*. 454
- , photodynamische Wirkung auf *Micrococcus rosaceus*. 456
- , photodynamische Wirkung auf *Saccharomyces rosaceus*. 457
- , photodynamische Wirkung auf *Sarcina flava*. 455
- Fluoresceingruppe, photodynamische Wirkung. 270
- Formaldehyd, Wirkung auf *Bacillus tuberculosis*. 671
- , Wirkung auf säurefeste Bakterien. 667
- , Wirkung auf *Staphylococcus pyogenes aureus*. 667
- Formalin, Desinfektion auf kaltem Wege. 77. 179
- , Wirkung auf Bakterien. 180
- Fringilla rufaceps*, Wirt von *Monopylidium passerinum*. 528
- Frösche in Ubangi, Wirte von Trypanosomen. 129
- Fuhrmannia brasiliensis Parona, Anatomie. 521
- Galaktose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Galle, Wirkung auf das Wutvirus. 71
- Gangrän, Bakteriologie und Histogenese. 15. 26

- Gasbacillus, Fraenkelscher, als Erreger von Hautnekrose ohne Gasbildung. 619
 — —, kulturelle Eigenschaften. 620
 Geißeln, Bildung bei *Bacillus anthracis*. 108
 Gewicht, spezifisches, von Bakterien. 487
 Glycerin, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Glykensäure, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 88
 —, Wirkung auf das Wachstum von *Coli-bacillen*. 88
 Glykose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Glykoside, Wirkung auf das Wutvirus. 73
 Hämagglutination, Beobachtungen. 660
 Hämagglutinine aus *Papilionaceensamen*. 664
 Hämoglobinurie, paroxysmale, Untersuchungen. 205
 Hämolyse, Beobachtungen. 660
 — beschleunigende Immuns-substanzen. 346
 — bewirkende Stoffe aus *Bacillus pyocyaneus*. 663
 — bewirkende Stoffe aus Bakterien. 663
 — bewirkende Stoffe aus *Staphylokokken*. 664
 — bewirkende Stoffe aus *Trypanosoma equiperdum*. 660
 — bewirkende Stoffe aus *Trypanosomen*. 660
 Hämolysin, Rolle bei der paroxysmalen Hämoglobinurie. 205
 Hämolsinbildung der Typhusbacillen. 536
 Harnstoff, Nachweis. 95
 Hautnekrose ohne Gasbildung, durch den Fraenkelschen Gasbacillus verursacht. 619
 Hefe s. a. *Saccharomyces*.
 Hefen, Wirkung von Aethylalkohol. 475
 Helodromas ochropus, Wirt von *Monopylidium macracanthum*. 530
 Hirns-substanz, normale, immunisierende Wirkung gegen Wut. 67
 Hühnerpest, Histologie. 393
 —, Vorkommen charakteristischer Körperchen. 394
Hymenolepis echinocotyle n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 532
 — *parina* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 534
 — *passerina* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 533
 — *phasianina* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 533
 — *tritesticulata* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 531
 Igel, Veränderungen der Naganatrypanosomen bei Passage durch denselben. 512
 Immunisierung, aktive, gegen bacilläre Dysenterie. 365
 — gegen das Diphtherietoxin. 558
 Immunität, Bedeutung der Leukocyten für dieselbe. 160. 235
 Immunitätslehre, neue Wege und Probleme. 44. 134. 638
 Immuns-erum, Typhus-, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche. 539
 Immuns-substanzen, Hämolyse beschleunigende. 346
 Impftuberkulose der Kaltblüter. 294
 Inagglutinabilität des *Bacillus typhi*. 491
 Infektion begünstigende aggressivartige Wirkung von Bouillonkulturfiltraten. 360
 —, Mechanismus. 45. 638
 Infektionskrankheit, spontane Heilung. 45
 Infektionstheorie, Versuch. 638
 Inulin, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Kaltblüter, Impftuberkulose. 294
 Kapselbildung bei Bakterien. 642
 Keratitis syphilitica des Kaninchens, experimentelle Untersuchungen. 37
 — —, Spirochätenfunde. 39
 Körperchen, Vorkommen bei Hühnerpest. 394
 Kohlehydrate, Wirkung von *Bacillus botulinus*. 198
 —, Wirkung von *Bacillus dysenteriae*. 104
 —, Wirkung von *Bacillus ozaenae*. 196
 —, Wirkung von *Bacillus paratyphi*. 105
 —, Wirkung von *Bacillus pestis*. 195
 —, Wirkung von *Bacillus pneumoniae*. 195
 —, Wirkung von *Bacillus pseudopestis*. 195
 —, Wirkung von *Bacillus pseudotuberculosis rodentium*. 194
 —, Wirkung von *Bacillus pyocyaneus*. 198
 —, Wirkung von *Bacillus rhinoscleromatis*. 196
 —, Wirkung von *Bacillus typhi*. 107
 —, Wirkung von *Bacillus typhi murium*. 106
 —, Wirkung von *Bacillus acidi lactici*. 103
 —, Wirkung von *Bacterium alcaligenes*. 104
 —, Wirkung von *Bacterium avicidum*. 194
 —, Wirkung von *Bacterium coli*. 99
 —, Wirkung von *Bacterium Hogcholera*. 193
 —, Wirkung von *Bacterium psittacosis*. 103
 —, Wirkung von *Bacterium vulgare*. 197
 —, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Komplementablenkungsversuche mit Typhusimmunseris. 539. 545
 Komplementwirkung, Beziehung der Lipide zu derselben. 247
 Konidienbildung bei *Bacterium typhi ditrophicum*. 492
 — bei Bakterien. 492
 Kreislauforgane, Wirkung der Toxine des *Pestbacillus*. 388
 Kröte, Impftuberkulose. 294
Labeo macrostoma, Wirt von *Trypanosomen*. 130
 — Zalzifer, Wirt von *Trypanosomen*. 133
 Lävulose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Lackmusemilch, s. Milch, Lackmus-
 —, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Laktose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Latenz der Tetanussporen im Organismus. 495
Lateriporus propetere n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 523
 — *teres* (Krabbe), Anatomie. 521
 Lecithin, bakterizide Wirkung. 70
 — Wirkung auf das Wutvirus. 69
 Leukämie, Vorkommen und Bedeutung geißelführender Elemente. 600

- Leukämie, Vorkommen und Bedeutung intranukleärer Körper der Lymphocyten. 600
- Leukocyten, Bedeutung für die Immunität. 160. 235
- , Vernichtung der Strepto- und Pneumokokken. 236
- Limosa limosa*, Wirt von *Dilepis limosa* n. sp. 516
- Lipoide, bakterizide Wirkungen. 247
- , Beziehung zur Komplementwirkung. 247
- Lymphocyten, Bedeutung intranukleärer Körper in denselben bei Leukämie. 600
- Lyssa s. Wut.
- Mais, Beziehung zur Pellagra. 507
- durch *Oospora verticilloides* geschädigt. 509
- Malachitgrünnährböden zur Differenzierung von *Bacillus typhi* und *Bacterium coli*. 550
- Malopterurus electricus*, Wirt von *Trypanosomen*. 133
- Maltose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Mandelsäure, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 87
- , Wirkung auf das Wachstum von *Coli-bacillen*. 87
- Mannit, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Maul- und Klauenseuche, Uebertragung auf den Menschen und Wiederimpfung auf Rinder. 628
- Megastoma entericum, Vorkommen im Menschendarm. 233
- Meningitis gonorrhoeica, Untersuchung. 501
- Meningococcus, Antikörper desselben. 175
- intracellularis Weichselbaum, Züchtung. 286
- Merganser *castor*, Wirt von *Hymenolepis tritriculata*. 531
- Micrococcus flavus liquefaciens*, spezifisches Gewicht. 489
- gonococcus, Erreger einer Meningitis. 501
- rosaceus, photodynamische Wirkung von Eosin. 462
- —, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 452
- —, photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid. 456
- sulfureus, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 452
- tetragenus rubens, spezifisches Gewicht. 489
- — septicus, Wirkung von Cholesterin. 70
- — —, Wirkung von Lecithin. 70
- Mikroorganismen s. a. Bakterien, Pilze etc.
- , Wirkung photodynamischer Stoffe. 270
- — —, 374. 451
- Mikroskopierlampe, neue. 574
- Milch, Lackmus-, Wirkung von *Bacillus botulinus*. 199
- —, Wirkung von *Bacillus dysenteriae*. 105
- —, Wirkung von *Bacillus ozaenae*. 197
- —, Wirkung von *Bacillus paratyphi*. 106
- —, Wirkung von *Bacillus pestis*. 195
- Milch, Lackmus-, Wirkung von *Bacillus pneumoniae*. 196
- —, Wirkung von *Bacillus pseudopestis*. 195
- —, Wirkung von *Bacillus pseudotuberculosis rodentium*. 194
- —, Wirkung von *Bacillus pyocyaneus*. 198
- —, Wirkung von *Bacillus rhinoscleromatis*. 196
- —, Wirkung von *Bacillus typhi*. 108
- —, Wirkung von *Bacterium typhi murium*. 107
- —, Wirkung von *Bacterium acidi lactici*. 103
- —, Wirkung von *Bacterium alcaligenes*. 104
- —, Wirkung von *Bacterium avicidum*. 194
- —, Wirkung von *Bacterium coli*. 102
- —, Wirkung von *Bacterium Hogcholera*. 193
- —, Wirkung von *Bacterium psittacosis*. 103
- —, Wirkung von *Bacterium vulgare*. 197
- —, Wirkung von Bakterien. 97. 193
- Milzbrandimmunität, Bedeutung der Leukocyten. 160. 235
- Monopylidium cayennense* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 529
- *macracanthum* n. sp., Anatomie. 530
- *passerinum* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 528
- *secundum* n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 530
- Muskelpreparat zur Untersuchung von Cytotoxinen. 1
- Mykose bei Menschen und Ratten. 631
- Nährböden, Malachitgrün-, zur Differenzierung von *Bacillus typhi* und *Bacterium coli*. 550
- Naganatrypanosomen*, Veränderungen durch Igelpassage. 512
- Naphtalingruppe, photodynamische Wirkung. 273
- Nekrose, Haut-, ohne Gasbildung, durch den Fraenkelschen Gasbacillus verurs. 619
- Nematoden, Vorkommen im Darmkanal von Rindern in Deli-Sumatra. 321
- Nervmuskelpreparat zur Untersuchung von Cytotoxinen. 1
- Nettium brasiliense*, Wirt von *Lateriporus propetere*. 523
- Nitrit, Nachweis. 94
- Oidium albicans*, spezifisches Gewicht. 489
- Oospora verticilloides* Sacc., Beziehung zur Pellagra. 509
- — —, Maisschädling. 509
- Oxybernsteinsäure, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 87
- , Wirkung auf das Wachstum von *Coli-bacillen*. 87
- Oxy Säuren, Wirkung auf das Wachstum von *Bacillus typhi*. 85
- , Wirkung auf das Wachstum von *Coli-bacillen*. 85

- Papilionaceensamen, Hämagglutinine aus denselben. 664
 Paramäcien, Wirkung photodynamischer Stoffe. 270
 Parus major, Wirt von Hymenolepis parina. 534
 Passer domesticus, Wirt von Monopylidium passerinum. 528
 Pellagra, Aetiologie. 507
 Penicillium glaucum, Wirkung von Cholesterin. 70
 — —, Wirkung von Lecithin. 70
 Pest, Hühner-, Histologie. 393
 Pestbacillus s. Bacillus pestis.
 Phasianus colchicus, Wirt von Hymenolepis phasianina. 533
 Phenazingruppe, photodynamische Wirkung. 272
 Phenoxazingruppe, photodynamische Wirkung. 272
 Phosphorsäure, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 88
 —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 88
 Photodynamische Stoffe, Untersuchungen. 270. 374. 451
 Picusarten, Wirte von Fuhrmannia brasiliensis Parona. 521
 Platalea leucorodia, Wirt von Cyclorchida omalancristota. 525
 Pneumokokken, Vernichtung durch Leukocyten. 236
 Präcipitinogen, Beziehungen zwischen demselben und der hämolytischen Sensibilisatrice. 49
 Proteus vulgaris, aggressivartige Wirkung von Bouillonkulturfiltraten. 360
 — —, Bewegungsgeschwindigkeit. 290
 — —, Bewegungskurven. 291
 — —, spezifisches Gewicht. 489
 Pyrocyanase, Eigenschaften. 355
 —, Herstellung und Eigenschaften eines Immunserums. 356
 Raffinose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Ratten, Mykose. 631
 —, Sporothrichose. 631
 Reagentien, Empfindlichkeit einiger in der Bakteriologie verwendeter. 94
 Recurrensprophäre, Vermehrung im Körper der Wanzen. 126
 Respirationstraktus, Infektion durch Aufwärtswandern der Bakterien im Verdauungskanal. 385
 Rhamnose, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Rohrzucker, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Rotlaufbacillen, Vorkommen auf der Darmschleimhaut gesunder Schweine. 33. 111
 —, Vorkommen in den Tonsillen gesunder Schweine. 116
 Saccharomyces s. a. Hefe.
 — albus, Wirkung von Cholesterin. 70
 — —, Wirkung von Lecithin. 70
 — roseus, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 452
 — —, photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid. 457
 Säuren, anorganische, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 88
 — —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 88
 Salicin, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Salpetersäure, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 89
 —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 89
 Salzsäure, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 89
 —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 89
 Samen von Papilionaceen, Hämagglutinine aus denselben. 664
 Saponin, Wirkung auf das Wutvirus. 73
 Sarcina flava s. a. Sarcina lutea.
 — —, photodynamische Wirkung von Eosin. 462
 — —, photodynamische Wirkung von Fluorescein. 383
 — —, photodynamische Wirkung von Fluoresceinanilid. 455
 — —, spezifisches Gewicht. 489
 — lutea s. a. Sarcina flava.
 — —, Wirkung von Cholesterin. 70
 — —, Wirkung von Lecithin. 70
 — — ventriculi, spezifisches Gewicht. 489
 Schildkröte, Impftuberkulose. 294
 Schistotaenia macrorrhyncha Rud., Anatomie. 534
 — scolopendra Dies., Anatomie. 534
 Schutzkräfte des infizierten Organismus, Anpassung der Bakterien an dieselben. 44. 134. 642
 Schwefelsäure, Wirkung auf das Wachstum von Bacillus typhi. 89
 —, Wirkung auf das Wachstum von Colibacillen. 89
 Schweine, gesunde, Vorkommen von Rotlaufbacillen in Darm und Tonsillen. 33
 Schweinerotlaufbacillus als Testbakterium für Filterprüfungen. 569
 Sensibilisatoren, photobiologische Untersuchungen. 270. 374. 451
 Sensibilisatrice, hämolytische, Beziehungen zwischen derselben und dem Präcipitinogen. 49
 Sera, Typhusimmun-, Agglutinations- und Komplementablenkungsversuche. 539
 Serum, bakteriolytisches, gegen Vibrionen ohne bakteriotrope Wirkung. 166
 —, Pyrocyanase-, Herstellung und Eigenschaften. 356
 Serumkomponente, Ziegen-, dritte, Veränderungen, durch Schafblutkörperchen bedingt. 55
 Solanin, Wirkung auf das Wutvirus. 74
 Somateria mollesima, Wirt von Lateriporus teres. 521
 Sorbit, Wirkung von Bakterien. 97. 193
 Spatula clypeata, Wirt von Hymenolepis echinocotyle n. sp. 532
 Spirillum parvum als Testbakterium für Filterprüfungen. 568

- Spirochaete gracilis*, Züchtungs- und Tierversuche. 15. 17
 — Obermeyer, Vermehrung im Körper der Wanzen. 126
 — *pallida*, Fibrillennatur. 227. 301
 — —, Protozoen- oder Bakteriennatur. 220
 — —, Rolle bei der Syphilis. 219. 301
 — —, Saprophyt. 303
 — —, Verhalten bei der Giemsa-Färbung. 91
Spirochäten, *Recurrens*-, Vermehrung im Körper der Wanzen. 126
 —, Vorkommen bei *Keratitis syphilitica* des Kaninchens. 37
Sporen des Bacillus tetani, Latenz im Organismus. 495
Sporothrichosen, Untersuchung. 631
Staphylococcus pyogenes albus, spezifisches Gewicht. 489
 — — *aureus*, spezifisches Gewicht. 489
 — — — als Testbakterium für Filterprüfungen. 569
 — — —, Wirkung von Cholesterin. 70
 — — —, Wirkung von Formaldehyd. 667
 — — —, Wirkung von Lecithin. 70
 — — *citreus*, spezifisches Gewicht. 489
Staphylokokken, hämolytische Stoffe aus denselben. 664
 —, Vergleich mit den *Botryokokken*. 121
Sterilitätserscheinungen bei Cestoden. 234
Stoffe, photodynamische, Untersuchungen. 270. 374. 451
Streptokokken, Vernichtung durch Leukocyten. 236
Strongyloides bovis n. sp., Entwicklung. 322
 — — —, Infektionsversuche. 325
 — — —, Morphologie. 321
 — — —, Vorkommen im Darmkanal von Rindern. 321
Stuhl, Isolierung von *Typhusbacillen* aus demselben. 556
Syphilis, *Cytorrhyses* luis als Erreger. 310. 404
 —, Erreger. 218. 301. 404
 —, experimentelle Studien. 218. 301. 404
 —, Immunisierungsversuche. 409
 —, Impfversuche. 316. 404
 —, Rolle der *Spirochaete pallida*. 219. 301
Tänien, Vorkommen bei Vögeln. 516
Tatria acanthorhyncha Wedl, Sterilitätserscheinungen. 234
Testbakterien für Filterprüfungen, Nachweis. 568
Testbakterienmischung zur Prüfung von Filtersubstanzen. 568
Tetanusbacillus s. *Bacillus tetani*.
Tetracisclityla macroscolecina n. sp. Fuhrmann, Anatomie. 535
Thermoresistenz der an die Antigene gebundenen Antikörper. 352
Thermostat, vereinfachter. 191
Thiodiphenylamingruppe, photodynamische Wirkung. 272
Tolidin, Wirkung auf das Wutvirus. 75
Tonsillen gesunder Schweine, Vorkommen von *Rotlaufbacillen*. 116
Toxin, Cyto-, Untersuchungstechnik. 1
 —, Diphtherie-, Immunisierung gegen dasselbe. 558
Toxine des Choleravibrio. 258. 332. 417
 — des *Pestbacillus*, Wirkung auf die Kreislauforgane. 388
Trichomonaden, Vorkommen im Menschen-darm. 231
Trogon surucura Vieill., Wirt von *Anomotaenia brasiliensis*. 519
Trypanosoma equiperdum, hämolytische Stoffe aus demselben. 660
 — karyozeukton, Vorkommen bei Fröschen in Ubangi. 129
 — Mega, Vorkommen bei Fröschen in Ubangi. 129
 — rotatorium, Vorkommen bei Fröschen in Ubangi. 129
Trypanosomen, hämolytische Stoffe aus demselben. 660
 —, Nagana-, Immunisierungsversuche. 514
 —, —, Veränderungen durch Igelpassage. 512
 —, Vorkommen bei Fischen in Ubangi. 130
 —, Vorkommen bei Fröschen in Ubangi. 129
 —, Wirkung von Trypanrot. 448
Trypanrot zur Behandlung der Dourine. 437
 —, Nebenwirkungen. 446
 —, Wirkung auf die Trypanosomen. 448
 —, Wirkung auf das Wutvirus. 75
Tuberkelbacillus s. *Bacillus tuberculosis*.
Tuberkelstoffe, Erzeugung von von den Antikörpern des *Tuberkelbacillus* unabhängigen Antikörpern. 62
Tuberkulose, Erzeugung von Antikörpern durch die Stoffe des Tuberkels. 62
 —, Impf-, der Kaltblüter. 294
 — — der Kröte. 294
 — — der Schildkröte. 294
Turdus parochus, Wirt von *Hymenolepis passerina*. 533
Typhusdiagnosticum Ficker, Untersuchungen. 539. 544
Typhusimmunsera, Agglutinationsversuche. 539. 541
 —, Komplementablenkungsversuche. 539
Vanellus-Arten, Wirte von *Anomotaenia macracanthoides*. 519
Vanellus dongolanus, Wirt von *Amoebotaenia vanelli*. 520
Verdauungskanal, Aufwärtswandern der Bakterien in ihm und dessen Bedeutung für die Infektion des Respirationstrakts. 385
Vibrio aquatilis, Bewegungsgeschwindigkeit. 291
 — —, Bewegungskurven. 293
 — —, spezifisches Gewicht. 489
Vibrio cholerae, Antidotoxine. 341
 — —, bakteriolytisches Serum gegen denselben ohne bakteriotrope Wirkung. 166
 — —, Bewegungsgeschwindigkeit. 290
 — —, Bewegungskurven. 292
 — —, Endotoxine. 334
 — —, spezifisches Gewicht. 489
 — —, Toxine. 258. 332. 417

<i>Vibrio cholerae</i> , Wachstum in nichtsterilen Abfallstoffen und Abwässern.	14	Wut, Wirkung von Benzidinderivaten auf das Wutvirus.	75
— —, Wachstum in sterilisierten Abfallstoffen und Abwässern.	5	—, Wirkung von Cholesterin auf das Wutvirus.	69
— —, Wirkung von Cholesterin.	70	—, Wirkung von Dichlorobenzidin auf das Wutvirus.	75
— —, Wirkung von Lecithin.	70	—, Wirkung von Farbstoffen auf das Wutvirus.	75
— El-Tor, Wirkung des Toxins auf das Wutvirus.	75	—, Wirkung von Galle auf das Wutvirus.	71
— Massana, Wirkung von Cholesterin.	70	—, Wirkung von Glykosiden auf das Wutvirus.	73
— —, Wirkung von Lecithin.	70	—, Wirkung von Lecithin auf das Wutvirus.	69
— proteus, Bewegungsgeschwindigkeit.	290	—, Wirkung von Saponin auf das Wutvirus.	73
— —, Bewegungskurven.	292	—, Wirkung von Solanin auf das Wutvirus.	74
— —, spezifisches Gewicht.	489	—, Wirkung von Tolidin auf das Wutvirus.	75
Vibrienstämme, bakteriolytisches Serum gegen dieselben ohne bakteriotrope Wirkung.	166	—, Wirkung von Trypanrot auf das Wutvirus.	75
Virulenz, Wesen.	135. 638	—, Wirkung des <i>Vibrio</i> El-Tor-Toxins auf das Wutvirus.	75
Vögel, Wirte von Tänien.	516	—, Wirkung von Wasserstoffsuperoxyd auf das Wutvirus.	75
Wachstum der Bakterien, Wirkung organischer Säuren.	81	—, Wirkung von Xylose, Wirkung von Bakterien.	97. 193
Wanze, Vermehrung der <i>Recurrentispirachäte</i> im Körper derselben.	126	Zitronensäure, Wirkung auf das Wachstum von <i>Bac. typhi</i> .	87
Wasserstoffsuperoxyd, Wirkung auf das Wutvirus.	75	—, Wirkung auf das Wachstum von <i>Coli-bacillen</i> .	87
Wut, Immunisierung durch normale Hirnsubstanz.	67		
—, Immunisierungsversuche mittels eines Serums.	76		
—, Wirkung von Atoxyl auf das Wutvirus.	75		

III. Verzeichnis der Abbildungen.

<i>Acanthocirrus macrorostratus</i> n. sp., Haken.	527	<i>Bacillus megatherium</i> , Bewegungskurve.	293
— —, Proglottis.	527	— <i>mesentericus fuscus</i> , Bewegungskurve.	292
<i>Agriostomum Vryburgi</i> n. sp. in der Darmwand. (Taf. V.)	332	— <i>pyocyaneus</i> , Bewegungskurve.	292
— —, Eier. (Taf. III, Fig. 4.)	332	— <i>subtilis</i> , Bewegungskurve.	291
— —, Kopfende. (Taf. IV, Fig. 1.)	332	— <i>typhi</i> , Bewegungskurve.	292
— —, Larve. (Taf. IV, Fig. 3—6.)	332	Bewegungskurven von Bakterien.	291. 292.
— —, Männchen. (Taf. III, Fig. 1.)	332	<i>Botryococcus ascoformans</i> , Rasenbildung.	122. 123. 124
— —, Pärchen in copula. (Taf. III, Fig. 3.)	332	<i>Botryomycesrasen</i> , Entstehung aus der Staphylokokkenform.	122
— —, Schwanzende. (Taf. IV, Fig. 2.)	332	—, Kapselbildung.	123. 124
— —, Weibchen. (Taf. III, Fig. 2.)	332	Cestoden, Sterilitätserscheinungen.	234
<i>Amoebotaenia brevicollis</i> n. sp., Flächenschnitt.	520	<i>Cyclorchida omalancristota</i> , Proglottis.	525
— —, Haken.	520	<i>Cytorrhycles Luisi</i> , Entwicklungsformen. (Taf. I, Fig. 5.)	416
— Vanelli n. sp., Haken.	520	— — im Primäraffekt. (Taf. I, Fig. 6.)	416
<i>Anomotaenia acollum</i> n. sp., Haken.	517	<i>Dilepis limosa</i> n. sp., Haken.	516
— <i>brasiliensis</i> n. sp., Haken.	519	Färbekrank nach Fornet.	93
— <i>hirundina</i> n. sp., Haken.	518	Fibrogranulome, Schnitte.	216. 217
— —, Skolex.	518	Filterapparat zur Gewinnung keimfreier Filtrate.	565
— <i>macracanthoides</i> n. sp., Haken.	519	Formaldehyd, Wirkung auf Bakterien, Untersuchungsrohrchen.	668
— <i>mutabilis</i> , Haken.	517	—, Wirkung auf <i>Staphylococcus pyogenes aureus</i> , Darstellung.	670
— —, Proglottis.	517		
Apparat, Filtrier-, zur Gewinnung keimfreier Filtrate.	565		
<i>Bacillus anthracis</i> , Geißeln. (Taf.)	110		
— —, Hüllen. (Taf.)	110		
— <i>butyricus</i> , Bewegungskurve.	292		

Fuhrmannia brasiliensis, Haken.	521	Spirochäte, Recurrens -, Vermehrung im Wanzenkörper.	128
Hühnerpest, Hirschnitte mit den Hühnerpestkörperchen. (Taf.)	403	Spirochäte, Silber -, aus der Kaninchen-cornea. (Taf. I, Fig. 2.)	416
Hymenolepis echinocotyle n. sp., Haken.	532	—, —, aus der Leber eines Fötus. (Taf. I, Fig. 1.)	416
— —, Oncosphäre.	532	—, —, aus einer Lunge. (Taf. I, Fig. 4.)	416
— parina n. sp., Haken.	534	—, —, in einer Pockenpustel. (Taf. I, Fig. 3.)	416
— passerina n. sp., Haken.	533	Strongyloides bovis n. sp., Darmgeneration. (Taf. I.)	332
— phasianina n. sp., Haken.	533	— —, freilebende Generation. (Taf. II.)	332
— —, Oncosphäre.	533	Syphilis, Affenleberschnitt.	317. 318. 319.
— teresoides, Haken.	523	—, Affenleberschnitt. (Taf. II—V.)	416
— tritesticulata n. sp., Geschlechtsorgane.	531	—, Cytorrhycles luis. (Taf. I, Fig. 5 u. 6.)	416
— —, Haken.	531	—, Silberspirochäten. (Taf. I, Fig. 1.)	416
Keratitis syphilitica, Präparate.	41	—, Spirochaete pallida in Corneapräparaten.	41
— —, Vorkommen von Spirochaete pallida.	41	Tatria acanthorhyncha, Sterilitätserscheinungen.	234
Lampe, Mikroskopier-, neue.	574	Tetracisidicotyla macrocolecina n. sp., Skolex.	535
Lateriporus propeteres, Cirrusbeutel und Vagina.	523	Thermostat, vereinfachter.	191
— —, Haken.	523	Trichomonaden, Entwicklung.	232
— —, Querschnitt.	523	Trypanosoma karyozeukton bei Fröschen.	129
— teres, Haken.	523	— mega bei Fröschen.	129
— —, Querschnitt.	522	—, Nagana-, nach der Igelpassage. (Taf., Fig. 1a.)	515
Leukämie, intranukleäre Körper der Lymphocyten. (Taf.)	619	—, —, Konjugationsformen. (Taf., Fig. 4.)	515
—, Vorkommen geißelführender Elemente. (Taf.)	619	—, —, Konjugationsformen nach der Igelpassage. (Taf., Fig. 4a.)	515
Lymphocyten, intranukleäre Körper. (Taf.)	619	—, —, aus Rattenblut. (Taf., Fig. 1.)	515
Mikroskopierlampe, neue.	574	—, —, Teilungsformen. (Taf., Fig. 2 u. 3.)	515
Monopylidium cayennense n. sp., Haken.	529	—, —, Teilungsformen nach der Igelpassage. (Taf., Fig. 2a u. 3a.)	515
— —, Skolex.	529	Trypanosomen bei Fischen in Ubangi.	131. 132. 133
— macracanthum n. sp., Haken.	531	— — Fröschen in Ubangi.	129. 130
— passerinum n. sp., Haken.	528	Tuberkulose, Lebertuberkel einer Kröte, Schnitt. (Taf., Fig. 2.)	301
— —, Proglottis.	528	—, Lebertuberkel einer Schildkröte, Schnitt. (Taf., Fig. 1.)	301
— secundum n. sp., Haken.	530	Vibrio aquatilis, Bewegungskurve.	293
Mykose beim Menschen. (Taf. I.)	636	— cholerae, Bewegungskurve.	292
— bei Menschen und Ratten, Kulturen des Erregers. (Taf. III, IV).	637		
— bei Ratten. (Taf. II.)	636		
Nagana-Trypanosomen s. Trypanosomen, Nagana.			
Proteus vulgaris, Bewegungskurve.	291		
Recurrensspirochäte, Vermehrung im Wanzenkörper.	128		
Spirochaete pallida in Corneapräparaten.	41		
— —, Verhalten bei der Giemsa-Färbung. (Taf.)	94		

CENTRALBLATT

für

Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten

Erste Abteilung:

Mediz.-hygien. Bakteriologie u. tier. Parasitenkunde

== **Originale** ==

in Verbindung mit

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. Loeffler,
Greifswald

Geh. Med.-Rat Prof. Dr. R. Pfeiffer, Staatsrat Prof. Dr. M. Braun
Königsberg i. Pr.

herausgegeben von

Prof. Dr. O. Uhlworm in Berlin W. 15, Nachodstr. 17^{II}

Verlag von Gustav Fischer in Jena

XLV. Bd.

♂ Jena, den 13. Februar 1908. ♂

Heft 8.

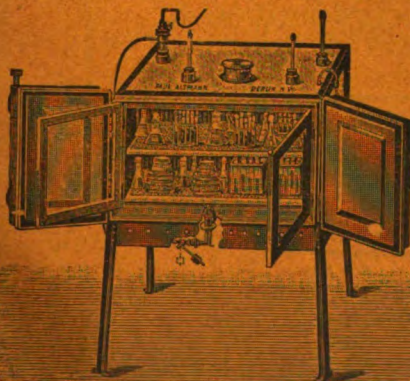
Preis für den Band (50 Bogen) 15 Mark. Schwierige Tafeln werden einem Bogen gleich gerechnet. — Die Nummern erscheinen zwanglos je nach dem vorliegenden Stoffe. Bei Einzelverkauf Preis für einen einfachen Druckbogen 40 Pfg., für eine Tafel 60 Pfg.

Paul Altmann

Luisen-Strasse 47 Berlin N.W., Luisen-Strasse 47
Ecke Schumannstrasse. Ecke Schumannstrasse

Fabrik und Lager

aller Apparate und Utensilien für Chemie, Bakteriologie,
Mikroskopie und -Hygiene.



Vollständige Einrichtungen
von
bakteriolog.-mikroskopischen Laboratorien,
sowie
hygienisch-chemischen Arbeitsstätten.
Präparaten-Cylinder
für
anatomische u. patholog. Sammlungen.

Specialität: **Brutschränke**
in dauerhafter, zweckmässiger Ausfüh-
rung und jeder Grösse.

Kleine vollständige Einrichtungen für
bakteriologische Untersuchungen von
250 Mark an.

Ausführliche illustrierte Kataloge an Interessenten gratis und franko.

ZEISS

◦◦ MIKROSKOPE ◦◦

für alle wissenschaftl. Untersuchungen.



MIKROPHOTOGRAPHISCHE APPARATE
für sichtbares und ultraviolettes Licht
PROJECTIONS-APPARATE, EPIDIASKOP
Einrichtung zur SICHTBARMACHUNG
ULTRAMIKROSKOPISCHER TEILCHEN

Man verlange Katalog M. 14.

BERLIN
FRANKFURTa. M.
HAMBURG.

CARL ZEISS
JENA

LONDON
ST. PETERSBURG
WIEN.

Vereinigte Fabriken für Laboratoriumsbedarf

G. m. b. H.

Berlin N., Scharnhorststr. 22.

Vorteilhafteste Bezugsquelle

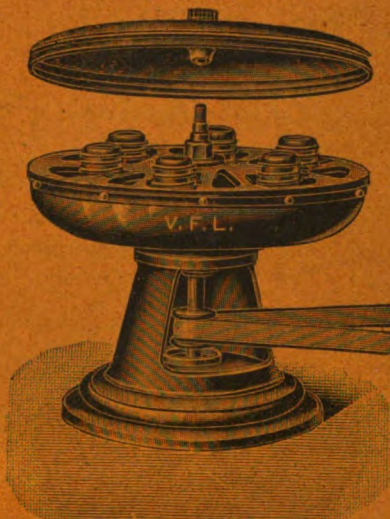
für vollständige Ausstattungen von Laboratorien, sowie Ergänzung einzelner Apparate.

Besichtigung des
neuen Fabrik-
Etablissement der

V. F. L.

mit

Mechan. Werkstätten,
Apparate-Bauanstalt
Metallschleiferei,
Galvan. Anstalt,
Glasbläserei,
Glasschleiferei,
Glasgraviererei,
Schlosserei,
Tischlerei,
Versuchs-
Laboratorium,
Demonstrationssaal,
Ausstellungsräumen
erbeten.



Hauptpreisliste No. 54

über

bakteriologische,
mikroskopische,
physiologische
und medizin. chem.
Apparate
auf Verlangen
gratis u. franko.

Spezialprospekt
für die nebenstehende
Zentrifuge zur
Verfügung.

Zentrifuge für elektrischen Antrieb zum Ausschleudern von Bakterien-Serum etc.
für 4000—5000 Touren pro Minute. Inhalt der Schleudergefäße bis 2000 cem.

— Ruhiger Gang. — Ohne Fundament überall aufstellbar. —

Agglutinierende Serumpräparate

des Schweiz. Serum- und Impfinstituts in Bern.

Wissenschaftl. Leitung: Prof. Dr. Kolle und Prof. Dr. Tavel.
Technische Leitung: Dr. Krumbein.

Zur Identifizierung von Bakterien.

Agglutinierendes Typhusserum, Paratyphus-
serum, Dysenterieserum, Choleraserum,
Meningococcenserum

im trockenen Zustande.

Zum Gebrauche werden die Sera mit sterilem dest. Wasser
im Verhältnis 1:10 gelöst.

Prospekt zu Diensten.

D. Riedel A. G., Chem. Fabriken, Berlin N. 39.

Dr. Hermann Rohrbeck

vorm. J. F. Luhme & Co.

Karlstrasse 20a Berlin N.W. 6 Karlstrasse 20a



DR. HERM. ROHRBECK

Erste Spezialfabrik
für sämtliche
Apparate und
Utensilien zu bak-
teriologischen
und mikroskopi-
schen Unter-
suchungen.

Bauanstalt für Desinfektoren

aller Systeme, für Krankenhäuser, Gemeinden, Kliniken etc.

Patent-Dampfdesinfektoren und Sterilisatoren, stationär und transportabel, unfehlbar sichere Desinfektion mit Hilfe von Unterdruck. Formalin-Desinfektoren. Thermostaten neuester Konstruktion von vorzüglichster Leistung, in allen Grössen; Sterilisatoren all. Systeme; Apparate f. Asepsis, kombinierte Apparate f. Verbandstoffe u. Instrumente. Autoklaven, Digestoren in allen Grössen zu jedem Ueberdruck.

Einrichtungen zu bakteriologischen Laboratorien
von 200 Mk. an.

Billigste Preise bei exakter und elegantester Ausführung,
da nur eigene Fabrikation.



J. Klönne & G. Müller,

BERLIN NW. 6,

No. 49. Luisen-Str. No. 49.

Lieferanten der bedeutendsten Krankenhäuser
und Institute des In- und Auslandes.

Werkstätten für Mikroskopie und Bakteriologie.

Neu! Mikroskopische Präparate von
„Spirochaete pallida“.
Farblösung nach Romanowsky-Nocht
zur Malarialfärbung.



Gesamt-Einrichtung bakteriologischer, che-
mischer und gährungschemischer Laboratorien. Bakterio-
logisches Laboratorium für den praktischen Arzt für Gas-
Benzin-, Spiritus- etc. Heizung (für Gas-Einrichtung 240 M.)
Brutschränke und Sterilisatoren in jeder Grösse in ge-
diegenster Ausführung zu billigsten Preisen. Normal-
Thermoregulator für Heizung jeder Art (auch Dampf) und
Wasserkühlung ganz aus Metall. — Mikroskope, Special-
Mikroskope. — Mikroskopische Präparate
aus allen Gebieten der Naturwissenschaften in höchster
Vollendung. — Apparate und Gerätschaften von Metall,
Holz, Porzellan und Glas. — Objektträger, Deckgläschen,
Laeke, Farben, Farbelösungen genau nach Vorschrift der
Autoren. — Chemikalien etc., Nährböden, Reinkulturen. —
Mikrophotographische Camera mit allem Zubehör nach Dr.
R. Neuhaus. — Photogramme und Diapositive von Dr. R.

Neuhaus. Apparate zur Untersuchung von Blut und Harn.

Deckglasschneide-Anstalt. Farblösungen u. Apparate z. Blutfärbungen. Prof. Ehrlich.
Reiner Azur, Azur-Bosin zur Romanowsky-Färbung unterscheidet sich vorteil-
haft durch seine exakte Doppelfärbung (überfärbt nicht diffus violett) von dem
im Handel befindlichen.

SPEYER & PETERS

Spezialbuchhandlung für Medizin

== Berlin N.W.7, Unter den Linden 43 ==

bieten in wohlerhaltenen und garantiert vollständigen
Exemplaren an:

Annales des maladies des organes génito-urinaires. Jahrg. 1—22. Paris 1882—1904. Geb.	750.—
Anzeiger, Anatom. Bd. 1—27. 1886—1905. (485.20) Geb.	350.—
Charité-Annalen. Jahrg. 1—27. 1876—1903. Geb. (568.—)	180.—
Encyclopädie d. Therapie. Hrsg. v. Liebreich u. A. 3 Bde. 1896—1900. Geb. (78.—)	30.—
Hebra, F., A. Elfinger u. C. Heitzmann, Atlas d. Haut- krankheiten. Complet. 10 Lief. Wien 1856—76. Folio.	700.—
Lebert, Traité d'anatomie pathol. 4 Bde. (Text u. Atlas.) M. 200 color. Taf. 1857—61. Geb. (675.— frs.)	200.—
Milne-Edwards, Leçons sur la physiologie et l'anatomie etc. 14 Bde. Paris 1857—81. (frs. 250.—) Vergriffen!	70.—
Mitteilungen aus dem Kais. Gesundheitsamte. 2 Bde. 1881—84. Origkart.	50.—
Ponfick, Topogr. Atlas d. mediz.-chirurg. Diagnostik. Cplt. 5 Lief. 1901—1905. Fol. (80.—)	55.—
Rundschau, Hygienische. Hrsg. v. C. Fraenkel u. A. Jahrg. 1—14 u. Gen.-Reg. zu Jahrg. 1—10. 1891—1904 (380.—)	190.—
Sanitätswesen d. preuss. Staates während d. J. 1889—1904. Berlin 1897—1906. (124.—)	50.—
Schwalbe's Jahresberichte. N. F. f. 1892—1903 (461.—) Geb.	250.—
Toldt, Anatomischer Atlas. 5. Aufl. 1907. Geb. (57.20)	47.—
Virchow-Hirsch, Jahresbericht. Jahrg. 1—38. (1415.—) Geb.	450.—

Wir suchen zu kaufen:

Archiv für experimentelle Pathologie.

Journal of infectious diseases.

Lubarsch und Ostertag, Ergebnisse.

Neurologisches Centralblatt.

Archiv für Laryngologie.

Zeitschrift für Psychologie.

Für den Bezug neuer Bücher

hält sich die **Sortimentsabteilung** unseres Geschäfts
angelegentlichst empfohlen.

Ganz besonders empfehlen wir uns zur

**Annahme von Abonnements
auf
alle Zeitschriften des In- und Auslandes**

die stets am Tage des Erscheinens an die aufgegebenen
Adressen zur Absendung gebracht werden.

**Korrespondenz auch in französischer
und englischer Sprache.**

Spezialität: Einrichtung ganzer Bibliotheken.

SPEYER & PETERS,

Spezialbuchhandlung für Medizin,

Berlin N.W. 7, Unter den Linden 43.

BUTLER

BIOLOGICAL SCIENCES LIBRARY
COLUMBIA UNIVERSITY

